



Suzanna Engrácio Lancinha
Licenciada em Engenharia do Ambiente

Produção de Biogás como Fonte Renovável de Energia a partir de Resíduos da Cultura do Milho

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia das
Energias Renováveis

Orientador: Professor Doutor Nuno Lapa, Professor Auxiliar da
UNL/FCT
Coorientador: Professor Doutor Mário Ventim Neves,
Professor Auxiliar da UNL/FCT

Presidente: Professor Doutor Pedro Pereira
Arguente: Professora Doutora Elizabeth Duarte
Vogal: Professor Doutor Nuno Lapa



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro 2016

**Produção de Biogás como Fonte Renovável de Energia a partir de
Resíduos da Cultura do Milho**

© Suzanna Engrácio Lancinha
Faculdade de Ciências e Tecnologia
Universidade Nova de Lisboa

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho não tinha sido possível sem a colaboração e o apoio de várias pessoas às quais agradeço.

Ao Professor Doutor Nuno Lapa, Professor Auxiliar da FCT-UNL, pela oportunidade de realizar este trabalho, disponibilidade e rigor. Pelos conhecimentos transmitidos e pelo tempo dedicado a este trabalho. Mas sobretudo pela amizade, boa disposição e profissionalismo que tão bem o caracterizam.

Ao Professor Doutor Mário Ventim Neves, Professor Auxiliar da FCT-UNL, por me ter coorientado e dado a oportunidade de realizar este mestrado.

À Elena Surra, aluna de Doutoramento da FCT-UNL, pelo companheirismo, ajuda incondicional prestada ao longo deste trabalho, quer a nível laboratorial, quer na parte escrita, pela disponibilidade, amizade, confiança e carinho.

À Sr^a. Rita Braga, técnica do DCTB/FCT/UNL, e à Sr^a. Rosa Pinto, auxiliar de laboratório do DCTB/FCT/UNL, pela ajuda prestada na realização das análises laboratoriais.

À Wendy Ribeiro e ao Diogo Dias, alunos de Mestrado e Doutoramento da FCT-UNL, respetivamente, pela amizade, carinho e boa disposição.

Aos meus amigos por todos os bons momentos que me proporcionaram ao longo deste mestrado e pela amizade, tornando este caminho mais fácil e agradável de percorrer.

Ao Ivo pela sua paciência, apoio, incentivo e compreensão, principalmente nos momentos em que o provei da minha companhia.

Aos meus tios, ao meu primo e aos meus avós pelo carinho, por acreditarem sempre em mim, por me guiarem, nunca me deixarem desistir, por tudo.

RESUMO

A presente dissertação foi dedicada à valorização de um bio-resíduo da cultura do milho por codigestão anaeróbia, em regime termófilo, para a produção de biogás.

Os substratos orgânicos utilizados no ensaio de codigestão foram a fração orgânica de resíduos sólidos urbanos (FORSU), previamente hidrolisada, e o carolo de milho (CM). O hidrolisado de FORSU foi inicialmente utilizado num processo de digestão anaeróbia, sem outro co-substrato. O CM pré-tratado por via química foi depois adicionado como co-substrato no ensaio de codigestão.

Com o objetivo de aumentar a biodegradabilidade do CM foram utilizados diversos pré-tratamentos mecânicos, químicos e termoquímicos: a) o pré-tratamento mecânico consistiu na trituração do CM até obter partículas de tamanho inferior a 1 mm, b) os pré-tratamentos termoquímicos incluíram irradiação com micro-ondas, na presença de agentes oxidantes, e c) os pré-tratamentos químicos consistiram na aplicação de agentes oxidantes, à temperatura ambiente.

Os melhores resultados, considerando o balanço entre (i) concentração de açúcares, (ii) produção de compostos inibidores, e (iii) remoção de lenhina, celulose e hemicelulose, foram obtidos no pré-tratamento realizado sob as seguintes condições: temperatura ambiente, razão H_2O_2/CM de 0,5, 2% de CM $m_{CM}/V_{solução}$, pH 9,8, durante 4h. Os seguintes resultados foram obtidos com este pré-tratamento (i) 148 mg/L de glucose e 182 mg/L de frutose, (ii) 1,1 mg/L de ácido p-cumárico e 0,4 mg/L de ácido ferúlico, e (iii) uma remoção de celulose de 11,3%, não se verificando remoção de lenhina, nem de hemicelulose.

A codigestão anaeróbia, a $50\pm 1^\circ C$, do hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado apresentou os rendimentos de produção de biogás e CH_4 mais elevados (734 L biogás/kg SV e 481 L CH_4 /kg SV), em comparação com o ensaio de digestão com hidrolisado de FORSU, representando um aumento de 29% da produção de biogás e 23% da produção de CH_4 . A codigestão de CM pré-tratado quimicamente + hidrolisado de FORSU parece ser uma opção para a valorização do CM para a produção de biogás. No entanto, são necessários estudos adicionais.

Palavras-chave: Digestão anaeróbia; Pré-tratamentos; Carolo de milho; Fração orgânica de resíduos sólidos urbanos; Biogás.

ABSTRACT

This work was devoted to the valorisation of a corn crop bio-waste through anaerobic co-digestion, with thermophilic regime, for biogas production.

The organic feedstocks used in the co-digestion assay were the organic fraction of municipal solid wastes (OFMSW), previously hydrolysed, and corn cob (CC) bio-waste. The hydrolysed OFMSW was initially used in a digestion assay without any co-substrate. The chemically pre-treated CC was then added as a co-substrate in the co-digestion assay.

Aiming to increase CC biodegradability, different mechanical, chemical and thermo-chemical pre-treatments were used: a) the mechanical pre-treatment comprised CC gridding to a particle size < 1 mm, b) thermo-chemical pre-treatments included microwave irradiation in the presence of oxidizing agents, and c) chemical pre-treatments consisted on the addition of oxidizing agents, at room temperature.

The best results, considering the balance between (i) sugar concentration, (ii) production of inhibitor compounds, and (iii) removal of lignin, cellulose and hemicellulose, were obtained in the pre-treatment carried out under the following conditions: room temperature, $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CC}$ ratio of 0.5, 2% $m_{\text{CC}}/v_{\text{solution}}$, pH 9.8, 4 h. The following results were obtained in this pre-treatment: (i) 148 mg/L glucose and 182 mg/L fructose; (ii) 1.1 mg/L p-cumalic acid and 0.4 mg/L ferulic acid, and (iii) 11.3% cellulose removal, although neither hemicellulose nor lignin had been significantly removed.

The co-digestion of hydrolysed OFMSW + pre-treated CC showed the highest biogas and CH_4 production rates (734 L biogas/kg SV and 481 L CH_4 /kg SV), compared to the digestion assay with only the hydrolysed OFMSW, which represent an increase of 29% (v/v) biogas and 23% (v/v) CH_4 . The co-digestion of chemically pre-treated CC + hydrolysed OFMSW points out to be a possible option for CC valorisation on biogas production. Additional future studies are needed.

Keywords: Anaerobic digestion; Pre-treatments; Corn cob; Organic fraction of municipal solid wastes; Biogas.

ÍNDICE DE MATÉRIAS

1.	ENQUADRAMENTO.....	1
2.	INTRODUÇÃO	3
2.1.	Cultura do milho	4
2.1.1.	Importância do milho em Portugal, na Europa e no Mundo	4
2.1.2.	Resíduos gerados na cultura do milho	4
2.2.	Pré-tratamentos de materiais celulósicos	5
2.2.1.	Redução do tamanho das partículas.....	6
2.2.2.	Irradiação com micro-ondas	7
2.2.3.	Agentes oxidantes	7
2.3.	Digestão anaeróbia (DA)	8
2.3.1.	Etapas da DA.....	9
2.3.2.	Fatores que condicionam a DA	9
2.3.2.1.	Temperatura	10
2.3.2.2.	pH	10
2.3.2.3.	Tempo de Retenção Hidráulico (TRH)	10
2.3.2.4.	Carga orgânica	11
2.3.2.5.	Potencial redox.....	12
2.3.2.6.	Macro e micronutrients	12
2.3.2.7.	Presença de inibidores	13
2.3.2.8.	Agitação.....	13
2.4.	Biogás e a sua valorização energética.....	13
2.5.	Objetivos e carácter inovador da presente dissertação	16
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1.	Substratos orgânicos utilizados como matérias-primas.....	17
3.1.1.	Tipos e proveniências.....	17
3.1.2.	Procedimentos de caracterização	19
3.1.2.1.	Determinação dos teores de sólidos.....	19
3.1.2.2.	Determinação da CQOt e CQOs.....	20

3.1.2.3. Quantificação do azoto Kjeldahl e azoto amoniacal	20
3.1.2.4. Determinação do fósforo total	21
3.1.2.5. Análise elementar e análise de ácidos orgânicos voláteis	22
3.2. Pré-tratamento dos resíduos de CM	22
3.2.1. Determinação dos teores de celulose, lenhina e hemicelulose	24
3.2.2. Determinação da concentração de compostos inibidores e açúcares	26
3.3. Unidade laboratorial de DA e condições de operação	26
3.4. Ensaaios de DA	29
3.4.1. Inoculação do digestor anaeróbio	29
3.4.2. Alimentação do digestor anaeróbio	29
3.4.3. Caracterização dos afluentes e efluentes	30
3.4.4. Análise quantitativa e qualitativa do biogás	30
3.4.5. Cargas aplicadas, eficiência de remoção e rendimentos de produção	31
3.5. Análise estatística	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. Caracterização química das matérias-primas	33
4.2. Pré-tratamento dos resíduos de CM	35
4.3. Cargas aplicadas ao digestor anaeróbio	39
4.4. Evolução dos parâmetros de controlo	40
4.5. Caracterização dos afluentes e efluentes	41
4.5.1. Teores de ST e SV	42
4.5.2. CQOt e CQOs	43
4.5.3. Teores de azoto	45
4.5.4. Fósforo total	46
4.5.5. Análise elementar	47
4.5.6. Concentração de AOV	48
4.5.7. Análise quantitativa e qualitativa do biogás	50
4.5.8. Rendimento de produção de biogás e CH ₄ relativamente à carga de SV	52
5. CONCLUSÃO	57

6.	SUGESTÕES DE TRABALHO FUTURO	59
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 - Produção de biogás e de metano relativa, em função da temperatura.....	10
Figura 2.2 - Produção de biogás em função do TRH	11
Figura 3.1 - FORSU proveniente do tanque de hidrólise da ETVO, Valorsul.	17
Figura 3.2 – Resíduos de CM após a sua colheita.	18
Figura 3.3 - Resíduos de CM após trituração, com granulometria inferior a 1 mm.	18
Figura 3.4 - Fermentador <i>New Brunswick Scientific</i> , modelo <i>BIOFLO</i> 1000. (1) Vaso de fermentação com cinta de aquecimento e poliéster de isolamento; (2) Entrada do afluente; (3) Saída do efluente; (4) Bomba peristáltica para retirada do efluente; (5) Sistema de agitação com motor externo, eixo de transmissão e pás no interior do fermentador (pás não visíveis na imagem); (6) Tubo de saída do biogás com condensador.	27
Figura 3.5 - Sistema de armazenamento e medição do volume de biogás. (1) Colunas de acrílico; (2) Tubo de condução do biogás do digestor para as colunas.....	28
Figura 3.6 - Esquema da unidade laboratorial de digestão anaeróbia.	29
Figura 4.1 - Concentração de açúcares na fração líquida de cada um dos pré-tratamentos realizados.	36
Figura 4.2 - Concentração de inibidores na fração líquida de cada um dos pré-tratamentos realizados.	37
Figura 4.3 - Percentagem de remoção de celulose, lenhina e hemicelulose nos diferentes pré-tratamentos.....	38
Figura 4.4 - Cargas volúmicas de SV aplicadas nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia.....	39
Figura 4.5 - Teores médios de ST, e desvios-padrão, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, nos ensaios de digestão e codigestão.	42
Figura 4.6 - Teores médios de SV, e desvios-padrão, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, nos ensaios de digestão e codigestão.	42
Figura 4.7 - Eficiências médias de remoção de ST e SV, e os respetivos desvios-padrão, nos ensaios de digestão e codigestão realizados.	43
Figura 4.8 - Teores médios CQOt, e desvios-padrão, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, nos ensaios de digestão e codigestão.	44
Figura 4.9 - Teores médios de CQOs, e desvios-padrão, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, nos ensaios de digestão e codigestão.	44

Figura 4.10 - Eficiências médias de remoção de CQOt e CQOs, e os respectivos desvios-padrão, nos ensaios de digestão e codigestão realizados.....	45
Figura 4.11 - Teores médios e desvios-padrão de fósforo nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, nos ensaios de digestão e codigestão.	47
Figura 4.12 - Concentração de ácidos orgânicos voláteis nos afluentes de digestão e codigestão anaeróbia.....	48
Figura 4.13 - Concentração de ácidos orgânicos voláteis nos efluentes de digestão e codigestão anaeróbia.....	49
Figura 4.14 – Volumes acumulados de biogás obtidos nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia.....	51
Figura 4.15 – Percentagens médias de CH ₄ , CO ₂ e H ₂ S no biogás, e respectivos desvios-padrão, obtidas nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia.	52
Figura 4.16 – Rendimentos de produção de biogás e CH ₄ relativamente à carga de SV aplicada, nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia.	53

INDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 - Características físico-químicas do carolo de milho.....	5
Tabela 2.2 - Benefícios ambientais do biogás.	14
Tabela 2.3 - Poder calorífico de vários combustíveis e respetivas emissões de CO ₂ equivalente.	14
Tabela 3.1 - Tipos de pré-tratamentos e respetivas condições aplicadas ao CM.	23
Tabela 4.1 - Caracterização química do hidrolisado da FORSU.	33
Tabela 4.2 – Análise elementar do hidrolisado da FORSU.	33
Tabela 4.3 - Composição de AOV do hidrolisado da FORSU.	33
Tabela 4.4 - Caracterização química do CM	34
Tabela 4.5 - Caraterização elementar do CM.	35
Tabela 4.6 - Teores de celulose, lenhina e hemicelulose do CM.	35
Tabela 4.7 – Valores N-Kjeldahl, N-NH ₄ e N-orgânico obtidos nos afluentes e efluentes do ensaio de digestão e codigestão anaeróbia.	46
Tabela 4.8 – Análise elementar do afluente de digestão anaeróbia.	47
Tabela 4.9 – Limites de concentração de AOV para diferentes níveis de estabilidade da DA.....	50
Tabela 4.10 – Rendimentos de produção de biogás e CH ₄ relativamente à carga de SV aplicada, obtidos em diferentes trabalhos de codigestão anaeróbia com resíduos de milho.	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOGIA

AOV – Ácidos Orgânicos Voláteis

CM – Carolo de Milho

CQO – Carência Química de Oxigênio

DA – Digestão Anaeróbia

DCTB – Departamento de Ciências e Tecnologia da Biomassa

DGEG – Direção Geral de Energia e Geologia

ETAR – Estação de Tratamento de Águas Residuais

ETVO – Estação de Tratamento e Valorização Orgânica

EUA – Estados Unidos da América

FER – Fonte de Energia Renovável

FORSU – Fração Orgânica de Resíduos Sólidos Urbanos

GEE – Gases de Efeito de Estufa

LNEG – Laboratório Nacional de Energia e Geologia

PNAEE – Plano Nacional de Ação para as Energias Renováveis

PTAN – Pressão e Temperatura Ambiente Normais

RSU – Resíduos Sólidos Urbanos

SF – Sólidos Fixos

ST – Sólidos Totais

SV – Sólidos Voláteis

TPN – Temperatura e Pressão Normais

TRH – Tempo de Retenção Hidráulico

1. ENQUADRAMENTO

A presente dissertação insere-se no projeto ERA.Net-LAC ELAC2014/BEE0367, designado por “Bio-FESS” – “Biorefinery for the Production of Low- and High-Grade Activated Carbon from forestry wastes, maize residues and biogas digestate”, financiado pela União Europeia e pela Fundação para a Ciência e Tecnologia do Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior.

Este projeto é desenvolvido por um consórcio formado pela Universität Hohenheim (Alemanha) (coordenador), pela FCT-UNL através da NOVA.ID.FCT (Portugal), pelo Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey (México) e pela Universidade de Los Andes (Colômbia).

Esta dissertação insere-se no trabalho de doutoramento da aluna Elena Surra, tendo sido utilizados alguns dos seus resultados.

2. INTRODUÇÃO

Os principais objetivos da Política Energética Europeia são a minimização da exposição à volatilidade dos preços dos combustíveis fósseis, a necessidade de redução de gases de efeito de estufa (GEE), a produção de energia mais limpa e local, a recuperação de energia a partir de resíduos, e a necessidade de mercados de energia mais competitivos para estimular a inovação tecnológica e o emprego (Poschl, Ward, & Owende, 2010), sendo importante substituir a energia obtida através de combustíveis fósseis por fontes de energia renovável (FER), principalmente através da valorização de diversos resíduos.

A digestão anaeróbia (DA) constitui uma tecnologia de valorização de biomassa e resíduos com a consequente produção de biogás, que, quando melhorado para biometano ($\text{CH}_4 > 95\% \text{ v/v}$) (Molino, Nanna, Ding, Bikson, & Braccio, 2013), pode ser injetado na rede de gás natural ou utilizado no setor dos transportes.

Entre os diferentes tipos de resíduos existentes, dois têm grande interesse com matéria-prima para a DA e, consequente, produção de biogás, devido à sua ampla abundância e custos limitados. Estes resíduos são a fração orgânica de resíduos sólidos urbanos (FORSU) e resíduos de milho (Ariunbaatar, Panico, Esposito, Pirozzi, & Lens, 2014).

A FORSU é produzida em quantidades elevadas, resultando da recolha seletiva ou da separação mecânica da fração orgânica dos RSU, sendo, na União Europeia, considerada uma mistura de resíduos de parques, jardins e cozinhas, e rica em proteínas, lípidos e alguns glúcidos. Por outro lado, o milho é um dos cereais mais produzidos no mundo, gerando resíduos que muitas vezes excedem a quantidade de carbono orgânico (C) necessário para a fertilização do solo.

O crescimento urbano exige uma maior necessidade de energia que, de acordo com as políticas europeias, deve ser, principalmente, gerada a partir de energias renováveis. Assim, a grande quantidade de FORSU produzida e de resíduos de milho inexplorados (Gu, Zhang, & Bao, 2014) oferecem a oportunidade de utilizá-los na produção de energia.

A DA a partir de FORSU para a produção de biogás é uma tecnologia conhecida e amplamente implementada à escala industrial para o fornecimento de eletricidade e calor (Mao, Feng, Wang, & Ren, 2015), enquanto que a codigestão de FORSU com resíduos de milho é um processo pouco estudado para a produção de biogás, oferecendo a oportunidade de contribuir para uma gestão integrada de resíduos e de responder à crescente procura de energia.

Os resíduos de milho, por serem uma biomassa celulósica, têm que ser submetidos a um pré-tratamento adequado, quer para superar a resistência intrínseca da fração celulósica, quer para facilitar a hidrólise e/ou aumentar a produção de biogás.

Este trabalho apresenta o estudo da codigestão de hidrolisado da FORSU e resíduos de milho, nomeadamente o carolo de milho (CM).

2.1. Cultura do milho

2.1.1. Importância do milho em Portugal, na Europa e no Mundo

O milho, *Zea mays*, pertence à família das *Poaceae* e à subfamília das *Panicoideae*. É uma planta anual, nativa dos Andes e da América Central e cultivada em quase todos os continentes. Este cereal, juntamente com o trigo e o arroz, constitui uma das principais culturas do mundo, podendo ser utilizado na alimentação humana e animal, e como fonte de produção de óleo alimentar. O milho é responsável pelo fornecimento de cerca de 15% da proteína e 20% das calorias da alimentação humana (Chutrtong, 2015; Nuss & Tanumihardjo, 2010).

Em 2014, a produção mundial de milho era mais de 1 milhar de milhão de toneladas, e uma área de colheita de cerca de 183 milhões de ha. A América, a Ásia e a Europa são os continentes com a maior produção deste cereal. Por sua vez, são os Estados Unidos da América (EUA) e a China os dois países onde a produção foi mais elevada, com valores de 357 Mt e 217 Mt respetivamente (FAOSTAT, 2016).

Na Europa, em 2014, os maiores produtores foram a Ucrânia, a Rússia, a França, a Roménia, a Espanha, a Alemanha, a Polónia, a Itália e a Hungria. O continente Europeu apresentou, nesse mesmo ano, uma produção total de cerca de 18 milhões de t, e uma área de cultivo de aproximadamente 129 milhões de ha (FAOSTAT, 2016).

Em Portugal, o milho constitui a mais importante cultura arvense e é, destacadamente, a que mais explorações agrícolas envolve. Em 2014, a área de colheita foi de 110600 ha e a produção de 933100 t (FAOSTAT, 2016). A cultura do milho aparece, em Portugal, ligada ao regadio, aproveitando as potencialidades edafo-climáticas que o posicionamento geográfico proporciona, mas também porque a localização geográfica do país torna a rega um contributo imprescindível ao desenvolvimento vegetativo da cultura.

2.1.2. Resíduos gerados na cultura do milho

Considera-se geralmente que a cultura do milho origina dois tipos de resíduos: a palha de milho (folhas e caules), e o CM. Quando é feita a colheita da cultura do milho, o CM pode ser colhido, ou deixado no solo, tal como a palha, mas a sua utilização como fonte orgânica e mineral é limitada. Contudo, devido às suas características químicas (Tabela 2.1), o carolo pode ser utilizado como matéria-prima para a produção de biocombustíveis e produtos químicos, tais como etanol e xilitol (L. Wang, Wu, Tang, Fan, & Yuan, 2012), mas pode também ser utilizado no processo de gasificação (Yao & Xu, 2016).

Tabela 2.1 - Características físico-químicas do carolo de milho (Yao & Xu, 2016).

Características físico-químicas	Carolo de Milho
Humidade (%)	0,87
Sólidos Voláteis	79,25
Cinzas	2,24
C	47,26
H	5,79
O	43,23
N	0,56
S	0,05

Por outro lado, a palha de milho é tradicionalmente deixada nos campos agrícolas para prevenir a erosão, manter o carbono orgânico e a fertilidade do solo. Contudo, nos EUA, o milho é, entre as principais culturas, a que produz um maior volume de resíduos, devido ao aumento do rendimento da sua produção. Assim, o excesso de resíduos pode ser utilizado para a produção de biocombustíveis, dando aos produtores a oportunidade de valorizarem os seus terrenos agrícolas, bem como de responder aos desafios da gestão de resíduos (Jeschke & Heggenstaller, 2012).

Desta forma, tendo em conta que por cada 100 kg de milho, são produzidos aproximadamente 18 kg de CM (Torre, Aliakbarian, Rivas, Domínguez, & Converti, 2008), em 2014, a sua disponibilidade terá sido de aproximadamente 190 milhões de t em todo o mundo, e de, aproximadamente, 167958 t em Portugal.

O CM é uma biomassa composta principalmente por celulose (31,7 – 34,8% m/m), hemicelulose (30,3 – 34,7% m/m) e lenhina (20,3 – 21,6% m/m) (Su et al., 2015); (Torre et al., 2008). As fibras de celulose são incorporadas numa matriz de hemicelulose e lenhina, tornando o CM um material muito resistente à degradação microbiológica.

A celulose é um polissacárido linear constituído unicamente por moléculas de glucose; a hemicelulose é também um polissacárido constituído por pentoses (xilose e arabinose) e/ou hexoses (glucose, manose e galactose); a lenhina é uma macromolécula formada por compostos fenólicos (Menon & Rao, 2012).

Deste modo, será necessário considerar-se a realização de pré-tratamentos para modificar a estrutura do CM e permitir a sua biodegradação anaeróbia.

2.2. Pré-tratamentos de materiais celulósicos

Os principais objetivos do pré-tratamento da biomassa para a DA são: (i) a melhoria da biodegradabilidade da biomassa, (ii) o aumento da quantidade e qualidade do biogás, (iii) a redução da quantidade de efluente/resíduo sólido, e (iv) a redução do tempo de retenção hidráulico (TRH), com a consequente redução do volume do reator (Mao et al., 2015). Assim, os pré-tratamentos permitem melhorar a acessibilidade e/ou a solubilização da fração orgânica, através da rutura das

paredes celulares, originando partículas de menor dimensão que estão mais facilmente disponíveis para o processo de hidrólise. Contudo, alguns pré-tratamentos, especialmente em condições ácidas, promovem a produção de furfurais ou compostos fenólicos, resultantes da degradação de pentoses, hexoses e lenhina, ou ácido acético, derivado dos grupos acetilo das hemiceluloses. Estes compostos podem inibir e/ou ter efeitos tóxicos nos microrganismos anaeróbios (Bayr, Kaparaju, & Rintala, 2013).

Existem diferentes tipos de tecnologias de pré-tratamentos que podem ser aplicados à biomassa, tais como físicos, térmicos, químicos, biológicos, ou uma combinação de alguns destes processos (Bayr et al., 2013). No entanto, devido à complexidade e variabilidade das estruturas químicas, a escolha do pré-tratamento depende do tipo de biomassa, sendo que este tem impacto sobre a sua biodegradabilidade, nomeadamente no que se refere à área de superfície acessível, na cristalinidade da celulose, na solubilização da hemicelulose e lenhina, na alteração da estrutura da lenhina, e na formação de compostos inibidores (Y. Zheng, Zhao, Xu, & Li, 2014).

No entanto, os pré-tratamentos mais utilizados na biomassa celulósica, como os resíduos de milho, são os mecânicos (moagem e extrusão) e os biológicos (enzimas e compostagem). Por sua vez, os pré-tratamentos físico-químicos, que são os mais estudados à escala laboratorial, não são muito aplicados à escala industrial. Relativamente aos resultados obtidos à escala laboratorial, foram alcançados resultados promissores em pré-tratamentos químicos (alcalino) (Carrere et al., 2016), pré-tratamentos assistidos por irradiação de micro-ondas (Diaz et al., 2015), e pré-tratamentos oxidativos (Y. Zheng et al., 2014; Song et al., 2014).

Desta forma, a revisão que se apresenta seguidamente encontra-se focada nos pré-tratamentos que são identificados como promissores para o pré-tratamento do CM, tendo em conta a redução do tamanho, a solubilização assistida por micro-ondas na presença de NaOH, glicerol e H₂O₂, e o pré-tratamento oxidante, à temperatura ambiente.

2.2.1. Redução do tamanho das partículas

A maior parte da biomassa celulósica, tal como o CM e a palha de milho, necessitam de um pré-tratamento mecânico, de forma a reduzir o seu tamanho inicial e a melhorar a sua biodegradabilidade (Bayr et al., 2013).

Os gastos de energia para os pré-tratamentos mecânicos encontram-se dependentes do tamanho de partícula pretendido, e da redução da cristalinidade do material linho-celulósico. Contudo, em muitos casos, quando a única opção de pré-tratamento disponível é o mecânico, a energia necessária é maior do que o conteúdo teórico de energia disponível na biomassa (Menon & Rao, 2012).

Um estudo relativamente recente, indica que a redução do tamanho das partículas deve ser realizado para uma dimensão entre 0,5 – 1 mm, de modo a aumentar-se a área de superfície acessível (J. Zheng, Choo, Bradt, Lehoux, & Rehmann, 2014).

Por fim, de acordo com Y. Zheng et al. (2014), a redução do tamanho das partículas de biomassa celulósica é benéfica para a sua conservação e para a produção CH₄. Estes autores registaram um

aumento da produção de CH₄ de 11% a 13% (v/v) para um intervalo de tamanho das partículas entre 6 e 33 mm.

2.2.2. Irradiação com micro-ondas

Nos pré-tratamentos de irradiação com micro-ondas, a energia é gerada por um campo eletromagnético e fornecida diretamente ao material para proporcionar um rápido aquecimento, com um reduzido gradiente térmico. Assim, é possível aquecer mais rapidamente um grande volume, reduzindo-se o tempo de pré-tratamento, o que pode levar a consideráveis poupanças de energia (Y. Zheng et al., 2014).

Boonsombuti & Luengnaruemitchai (2013) concluíram que as condições de pré-tratamento ótimas para a hidrólise enzimática do CM são 2% (s/s) de NaOH, a 100°C, durante 30 min num forno de micro-ondas. Foi obtida uma concentração total de açúcares de 45,60 g/L (ou 683,97 mg/g de CM pré-tratado), e uma remoção de lenhina de 60%. As temperaturas de pré-tratamento mais elevadas (100°C e 120°C) com 2% (s/s) de NaOH proporcionaram uma maior concentração de glucose, em comparação com o pré-tratamento com 3% (s/s) de NaOH. Os autores concluíram ainda que as temperaturas mais baixas de pré-tratamento (60°C) não são favoráveis para a libertação dos açúcares.

Por sua vez, os solventes com elevado ponto de ebulição, como o glicerol, são normalmente utilizados no pré-tratamento de biomassa com micro-ondas, devido ao seu elevado ponto de ebulição à pressão atmosférica. Este tipo de pré-tratamento quebra as ligações da biomassa, podendo ser utilizado como subproduto.

De acordo com Diaz et al. (2015), os pré-tratamentos com micro-ondas efetuados por imersão da palha de milho numa solução aquosa de glicerol (95% v/v) ou numa solução alcalina de glicerol (95% v/v de glicerol + NaOH 1,4 M) permitiram obter uma percentagem de remoção de lenhina de 29,5% e 22,6%, respetivamente. Os resultados evidenciaram uma hidrólise mais eficiente de palha de milho, possivelmente como resultado de uma alteração significativa da sua estrutura.

2.2.3. Agentes oxidantes

O pré-tratamento de oxidação com peróxidos é um método comum para melhorar a conversão biológica da biomassa celulósica. O mais usado é o H₂O₂, seguido do ácido peracético, dimetiloxirano e peroximonosulfato (Y. Zheng et al., 2014).

O poder dos peróxidos está na sua capacidade de se transformarem em radicais hidroxilo, que são mais fortes do que o próprio peróxido na remoção de lenhina e na solubilização dos componentes poliméricos da biomassa e acessibilidade aos microrganismos anaeróbios. O pré-tratamento com H₂O₂ é um processo de oxidação não seletivo, logo podem ocorrer perdas de hemicelulose e celulose (Y. Zheng et al., 2014).

O H₂O₂ requer um pH alcalino para produzir os radicais oxidantes necessários para degradar a lenhina, sendo o NaOH o agente mais utilizado para elevar o pH até 11,5. Por outro lado, o pré-tratamento alcalino com H₂O₂ foi testado com sucesso à temperatura ambiente, proporcionando

vantagens em termos de poupança de energia, em comparação com outros pré-tratamentos termoquímicos. O tempo de duração destes pré-tratamentos tem também uma grande influência na quantidade de lenhina removida (Banerjee, Car, Scott-craig, Hodge, & Walton, 2011).

Segundo Selig et al. (2009), com 1% (m/m) de H_2O_2 , com um pH de 11,5, durante 3h em agitação constante, verifica-se um aumento da produção de açúcares com o aumento da temperatura, utilizando palha de milho. Karagöz et al. (2012) obtiveram rendimentos mais elevados de solubilização de açúcares, com palha de colza, a 50°C do que a 70°C, devido à decomposição do H_2O_2 a temperaturas mais elevadas.

Dois fatores importantes no pré-tratamento alcalino com H_2O_2 são a concentração de sólidos e a carga do H_2O_2 . O tratamento de 2% (m/v) de palha de milho, com H_2O_2 numa razão 0,5 g H_2O_2 /g biomassa, durante 4h, à temperatura ambiente e com um pH de 11,5, conduziu à remoção de 50% de lenhina e à conversão de 95% de glucose (Gould, 1984). Por sua vez, Banerjee et al. (2011), estudaram os pré-tratamentos alcalinos com H_2O_2 em palha de milho, com diferentes razões H_2O_2 /biomassa. Com diferentes razões H_2O_2 /biomassa (0,125; 0,25 e 0,5), com uma concentração de sólidos de 10% (m/v), durante 24h, à temperatura ambiente, foi possível concluir que os melhores rendimentos na conversão de glucose ocorreram a 0,25 e 0,5 m/m (95% e 83%, respetivamente). Contudo, o rendimento de conversão de glucose pode ser melhorado para a razão 0,125 g H_2O_2 /g biomassa através do aumento do tempo de pré-tratamento para 48 h.

Song et al. (2014) estudaram o efeito de sete pré-tratamentos químicos, tais como H_2O_2 , H_2SO_4 , HCl, CH_3COOH , NaOH, $Ca(OH)_2$ e $NH_3 \cdot H_2O$, no rendimento de produção de CH_4 , a partir de palha de milho. Estes autores concluíram que a palha de milho pré-tratada com H_2O_2 3% (m/m) obteve o maior rendimento de CH_4 (216,7 mL CH_4 /g SV), em comparação com os outros pré-tratamentos. Desta forma, o pré-tratamento com H_2O_2 pode ser considerado um método favorável para melhorar o rendimento de CH_4 , devido à sua eficácia e baixo custo.

Por fim, uma concentração de H_2O_2 elevada (por exemplo, 4% m/m) inibe a DA, devido ao excesso de iões hidroxilo, que são tóxicos para as bactérias metanogénicas (Y. Zheng et al., 2014).

2.3. Digestão anaeróbia (DA)

A DA é um processo biológico de degradação da matéria orgânica por microrganismos, em condições anaeróbias, ou seja, na ausência de oxigénio molecular (O_2). Este processo realiza-se em quatro fases: hidrólise, acidogénese, acetogénese, metanogénese. A DA ocorre, essencialmente, em dois regimes de temperatura: mesófilo (30-38°C), e termófilo (45-65°C). Em condições ideais, os produtos finais deste processo são o biogás, composto essencialmente por CH_4 e CO_2 , e teores reduzidos de H_2S , CO, H_2 e NH_3 (Mirzoyan, Tal, & Gross, 2010). Fatores como o pH, a temperatura, o TRH e a carga orgânica, condicionam a digestibilidade do substrato e a produção de biogás (Mao et al., 2015).

Embora o principal interesse do processo de DA seja a produção de biogás, existem outras finalidades, tais como a utilização do efluente tratado, bem como das lamas geradas, para uso

agrícola.

2.3.1. Etapas da DA

Como foi referido anteriormente, o processo de DA divide-se em quatro etapas: hidrólise, acidogénese, acetogénese, metanogénese, a partir das quais ocorre a decomposição de compostos orgânicos biodegradáveis mais complexos (proteínas, polissacáridos, lípidos e ácidos nucleicos), em biogás e compostos orgânicos mais simples (aminoácidos, monossacáridos, ácidos gordos e purinas).

A **hidrólise** é a primeira etapa do processo de DA. Nesta etapa, as bactérias hidrolíticas convertem os polímeros complexos (lípidos, polissacáridos, proteínas e ácidos nucleicos), em monómeros (ácidos gordos, monossacáridos, aminoácidos e purinas). Esta pode tornar-se uma etapa limitante do processo (Molino et al., 2013). Se os resíduos forem constituídos por celulose, proteínas, lenhina e lípidos, a hidrólise ocorre de forma mais lenta, o que pode levar à não formação de monómeros suficientes para o desenvolvimento dos microrganismos responsáveis pelas restantes etapas da DA (Mac & Llabr, 2000). Por sua vez, se os resíduos forem constituídos por matéria orgânica pobre em celulose, logo mais facilmente biodegradável, a hidrólise ocorre de forma mais rápida.

Na **acidogénese**, os produtos gerados na hidrólise são fermentados para formar ácidos orgânicos voláteis (AOV), principalmente ácido láctico, propanóico, butanóico e valérico (Abbasi, Tauseef, & Abbasi, 2012). Nesta fase, um pH ligeiramente ácido maximiza a atividade das bactérias acidogénicas, contudo valores de pH baixos diminuem a atividade das bactérias metanogénicas.

Na **acetogénese**, os AOV, produzidos na etapa anterior, e os ácidos gordos, monossacáridos, aminoácidos e purinas, produzidos na hidrólise, são convertidos em ácido acético, que é um dos principais precursores de CH_4 , CO_2 e H_2 (Abbasi et al., 2012).

Nesta etapa, existem dois tipos de bactérias intervenientes: as bactérias sintróficas, produtoras de H_2 , e as bactérias homoacetogénicas, consumidoras de H_2 . As primeiras são muito sensíveis à concentração de H_2 existente no meio, podendo o processo ser bloqueado devido a excesso de H_2 . Por sua vez, as bactérias homoacetogénicas produzem acetato, a partir de CO_2 e H_2 .

Por fim, na **metanogénese**, as bactérias metanogénicas, que são estritamente anaeróbias, consomem o acetato, H_2 e algum CO_2 , para produzir CH_4 (Abbasi et al., 2012). Nesta fase, a remoção de H_2 é essencial para que as bactérias sintróficas permaneçam em atividade. Por sua vez, a inibição da acetogénese aumenta o teor de ácidos e, consequentemente, diminui o pH do meio, inibindo a ação das bactérias metanogénicas.

2.3.2. Fatores que condicionam a DA

Para que o rendimento de conversão do substrato orgânico em biogás seja maximizado, devem ser asseguradas as condições ideais de funcionamento. Assim, tal como foi referido anteriormente, fatores como o pH, a temperatura, o TRH, a carga orgânica, condicionam a atividade dos microrganismos e a produção de biogás, requerendo especial atenção (Mao et al., 2015).

2.3.2.1. Temperatura

Existem, essencialmente, dois regimes de temperatura: mesófilo (30-38°C) e termófilo (45-65°C). Embora o regime termófilo seja geralmente mais eficiente, é mais difícil de controlar pois as bactérias termofílicas são mais sensíveis a variações de temperatura, de carga orgânica e à presença de tóxicos, e também porque necessita de uma maior quantidade de energia, o que conduz a um balanço energético menos favorável em relação ao regime mesófilo (Abbasi et al., 2012). Como se pode observar na Figura 2.1, no regime termófilo existe um maior volume acumulado de biogás e CH₄, em menos tempo, devido à mais rápida degradação anaeróbia nesta gama de temperatura.

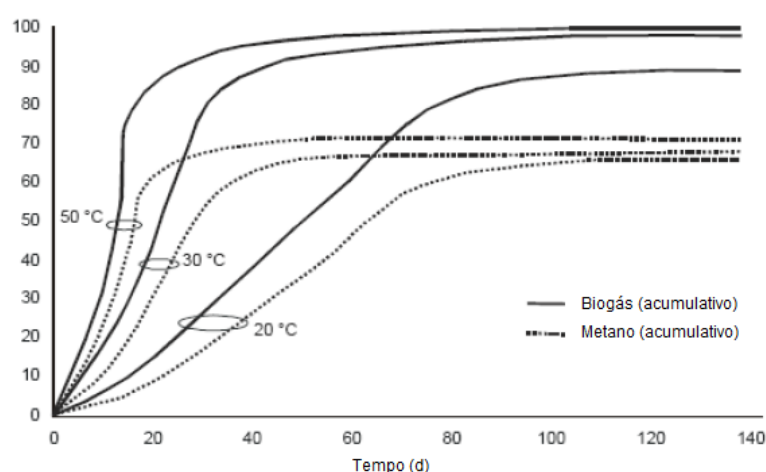


Figura 2.1 - Produção de biogás e de metano relativa, em função da temperatura (Seadi et al., 2008).

2.3.2.2. pH

O pH da DA afeta diretamente o processo e os seus produtos, sendo o intervalo ótimo entre 6,8 - 7,4 (Mao et al., 2015). Quando o pH é inferior a 5, predominam no meio AOV, que levam à inibição das bactérias metanogénicas, pois estas não são capazes de metabolizar todo o acetato proveniente da acidogénese. As bactérias acidogénicas e metanogénicas têm níveis de pH ideais. Assim, as bactérias metanogénicas preferem valores entre 6,5 e 8, sendo a produção de CH₄ significativamente afetada quando o pH <6. Por sua vez, as bactérias acidogénicas preferem um pH entre 5,5 e 6,5, sendo que continuam em atividade com um pH <5 (Seadi et al., 2008; Kim et al., 2003). Em geral, a diminuição do pH e o aumento da percentagem de CO₂ no biogás são indicadores de perturbações no processo (Abbasi et al., 2012).

2.3.2.3. Tempo de Retenção Hidráulico (TRH)

O TRH designa o tempo de retenção do substrato no digestor, ou seja, o tempo que o substrato orgânico permanece no interior do digestor, desde o instante em que entra, até ao momento em que sai do mesmo (Abbasi et al., 2012). O TRH pode ser calculado de acordo com Equação 2.1 (Mao et

al., 2015):

$$TRH = \frac{V}{Q} \quad (2.1)$$

Onde,

TRH - Tempo de retenção hidráulico (dias);

V - Volume do digestor anaeróbio (m³);

Q - Caudal de entrada de substrato no digestor anaeróbio (m³/dia).

Um TRH reduzido leva à diminuição da produção de biogás e ao aumento do material por digerir na saída do digestor (Seadi et al., 2008). Assim, quanto maior for o tempo que os resíduos permanecem no interior do digestor em condições adequadas, maior será a sua degradação e a produção de biogás. Contudo, à medida que o TRH aumenta, a velocidade das reações de degradação dos substratos orgânicos diminui, bem como a taxa de produção de biogás, como se pode verificar na Figura 2.2.

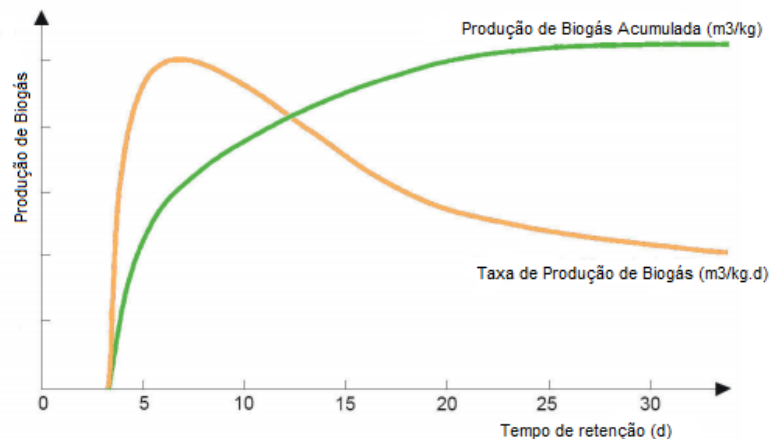


Figura 2.2 - Produção de biogás em função do TRH (Seadi et al., 2008).

2.3.2.4. Carga orgânica

A carga orgânica representa a quantidade de sólidos voláteis (SV), em unidade de massa (por exemplo, kg) alimentados a um digestor por unidade de tempo (por exemplo, dia), sob alimentação contínua. Um aumento da mesma conduz a um aumento de rendimento de biogás, mas o equilíbrio e produtividade da DA pode ser fortemente perturbado por uma carga orgânica demasiado elevada para a capacidade degradadora do consórcio de microrganismos existente num digestor. O fornecimento de uma carga orgânica excessiva ao digestor pode resultar numa produção excessiva de AOV com a consequente redução do pH do meio, inibindo a atividade bacteriana, em particular, as bactérias metanogénicas (Mao et al., 2015).

$$Carga = \frac{C \times Q}{V} \quad (2.2)$$

Onde,

Carga – Carga orgânica (g/L-dia);

C – Concentração de matéria orgânica (g/L);

Q – Caudal de efluente (L/dia);

V – Volume útil do digestor anaeróbia (L).

2.3.2.5. Potencial redox

O potencial redox pode ser definido, de modo geral, pela facilidade com que um substrato ganha ou perde elétrons. Assim, quando um elemento perde elétrons diz-se que este é oxidado, enquanto que, quando ganha elétrons diz-se que é reduzido.

O potencial redox deve ser igual ou inferior a -250 mV, não sendo aconselhável a presença ou a adição de agentes oxidantes ao afluente, pois originaria um aumento deste parâmetro. O intervalo ótimo de potencial redox para as bactérias metanogénicas situa-se entre -300 e -350 mV (Deublein & Steinhauser, 2010; Duarte, 1991).

2.3.2.6. Macro e micronutrients

A presença de macro e micronutrientes pode estimular a produção de CH₄, bem como melhorar a estabilidade do processo (L. Zhang, Lee, & Jahng, 2011). Os macronutrientes C, N, P, S são constituintes da biomassa e são necessários para a ativação ou funcionamento de muitos processos metabólicos dos microrganismos envolvidos na DA. Contudo, os microrganismos necessitam também de micronutrientes, como Fe, Ni, Mo, Co, Se e W, para o seu crescimento, bem como para as reações enzimáticas e químicas (Mao et al., 2015).

A razão C/N reflete os níveis destes macronutrientes que podem ser eventualmente disponibilizados por um substrato submetido a DA. Uma elevada razão C/N induz uma reduzida produção de proteínas e conduz a baixas concentrações de AOV. Os substratos caracterizados por uma razão C/N excessivamente baixa aumentam o risco de inibição por NH₃, o qual é tóxico para as bactérias metanogénicas. Por sua vez, substratos com uma razão C/N excessivamente elevada não fornecem azoto suficiente para manter a biomassa, conduzindo a uma rápida degradação do azoto celular e a uma menor produção de biogás. A razão C/N ótima para a DA está entre 20 e 30, ou entre 20 e 35, sendo 25 a razão mais usada (X. Wang, Yang, Feng, Ren, & Han, 2012).

A razão ótima C:N:P:S para a DA é referida, em geral, como sendo 600:15:5:1, e a razão C:N:P ótima para a produção de CH₄ é indicada como sendo de 200:5:1. No entanto, embora a adição de macro e micronutrientes seja uma forma simples de se conseguir a estabilidade do processo e uma produção eficiente de biogás, a sua viabilidade económica está dependente do seu custo (Mao et al., 2015).

A eficiência e estabilidade da DA com FORSU pode ser afetada por uma baixa razão C/N, bem como pela fração orgânica facilmente degradável presente, que provoca a acidificação do meio

(Kawai et al., 2014). Assim, a codigestão de FORSU com outros resíduos, tais como resíduos de biomassa, é uma estratégia para superar este problema (Shen et al., 2013; C. Zhang, Xiao, Peng, Su, & Tan, 2013). A codigestão de resíduos alimentares com outros resíduos tem como vantagem a estabilização da razão C/N, bem como o aumento do rendimento de produção de CH₄ (Yong, Dong, Zhang, & Tan, 2015).

2.3.2.7. Presença de inibidores

Os compostos inibidores podem estar presentes no substrato ou ser gerados durante a digestão. Os metais e compostos orgânicos são os mais comuns inibidores do normal crescimento das bactérias num digestor anaeróbio. Concentrações reduzidas de Cu, Ni, Cr e Zn estimulam o crescimento bacteriano, mas concentrações elevadas podem ter efeitos inibidores (Appels, Baeyens, Degreève, & Dewil, 2008; Abbasi et al., 2012).

A recuperação dos digestores, após inibição por substâncias tóxicas, só pode ser alcançada pela paragem da alimentação, pela diluição do conteúdo para minimizar a concentração de substâncias inibidoras para um nível abaixo do tóxico, ou, em casos de elevada toxicidade, pela eliminação do conteúdo do digestor e pelo seu arranque com um substrato não contaminado (Abbas et al., 2012).

2.3.2.8. Agitação

A agitação é necessária para manter a homogeneidade do fluido dentro do digestor, e, consequentemente, a estabilidade do processo ao nível da temperatura e da concentração de substrato, impedindo a formação de camadas de espuma na superfície e a deposição de lamas no fundo do digestor (Appels et al., 2008). Contudo, uma agitação muito acentuada pode perturbar a comunidade bacteriana, enquanto que uma agitação demasiado lenta pode causar uma mistura inadequada (Abbas et al., 2012).

2.4. Biogás e a sua valorização energética

O biogás é um gás combustível derivado da decomposição biológica de resíduos, em condições de anaerobiose, sendo que a sua energia está quimicamente dependente dos teores de CH₄, CO e H₂. Uma vez que os teores de CO e H₂ são normalmente vestigiais no biogás, o teor de CH₄ é o principal fator que condiciona o conteúdo energético deste gás.

As propriedades e composição do biogás dependem do substrato de alimentação, dos sistemas de digestão e dos vários parâmetros de operação da DA (Seadi et al., 2008). Assim, o biogás é constituído principalmente por CH₄ (40-75%) e CO₂ (15-60%), mas podem estar presentes quantidades vestigiais de outros componentes, tais como H₂S, NH₃, O₂, CO, H₂ e N₂ (Ryckebosch, Drouillon, & Vervaeren, 2011).

O biogás tem um grande potencial de aplicação, uma vez que pode ser utilizado para produção de energia elétrica e térmica, mas também como combustível para veículos e para a injeção na rede de gás natural. As duas últimas aplicações requerem que se proceda ao melhoramento ("up-grading") prévio do biogás. Trata-se de uma forma promissora de atender às necessidades de energia em

meios urbanos e rurais, proporcionando vários benefícios ambientais (Tabela 2.2).

Tabela 2.2 - Benefícios ambientais do biogás (Mao et al., 2015).

Benefícios Ambientais do Biogás	Conteúdo Correspondente
Produção de Energia Verde	Eletricidade
	Calor
	Combustível
Eliminação de Resíduos Orgânicos	Resíduos agrícolas
	Resíduos industriais
	RSU
	Resíduos domésticos
	Misturas de resíduos orgânicos
Proteção Ambiental	Redução patogénica através do saneamento
	Menor incómodo de insetos
	Redução da poluição do ar e da água
	Redução da eutrofização e da acidificação
	Conservação da vegetação florestal
	Substituição de fertilizantes inorgânicos
Redução de Gases com Efeito de Estufa	Substituição das fontes de energia convencionais

As vantagens da produção de biogás devem-se (i) ao facto de conter um poder calorífico (Tabela 2.3) relativamente elevado e, após “up-grading”, o biometano apresenta um poder calorífico com um valor próximo do valor do gás natural, (ii) ao um menor custo, uma vez que é produzido a partir de matéria biodegradável considerada como resíduo, (iii) à redução da emissão de GEE (cerca de 23 vezes menos do que o gás natural) (Tabela 2.3), (iv) à valorização energética de resíduos e (v) à reciclagem de nutrientes contidos nas frações líquida e sólida do digerido (Abbasi et al., 2012).

Tabela 2.3 - Poder calorífico de vários combustíveis e respetivas emissões de CO₂ equivalente (Abbasi et al., 2012).

Combustível	Poder Calorífico Inferior (PCI)	Fator de Emissões Indiretas (kgCO_{2e}/GJ, base PCI)
Petróleo	10800 kcal/kg	12,51
Gás Natural	8600 kcal/m ³	5,55
Gás Natural liquefeito	13140 kcal/kg	20,00
Querosene	10300 kcal/kg	13,34
Diesel	10700 kcal/kg	14,13
GNC (gás natural comprimido)	8600 kcal/m ³	8,36
Biogás	5000 kcal/m ³	0,246

Em 2013, a Alemanha destacou-se como maior produtor de biogás, com 6868 Mtep de energia primária obtida a partir de biogás, seguida do Reino Unido e da Itália, com 1624 Mtep e 1616 Mtep de energia primária obtida a partir de biogás, respetivamente (EUROSERVER). Por sua vez, em Portugal, em 2013, a produziu-se 250 GWh de energia elétrica a partir de biogás, e, em 2014, 278 GWh, verificando-se que é a FER com menor produção de energia elétrica no país, embora estando em fase de crescimento (DGEG, 2016).

Em Portugal, a produção de biogás ocorre, sobretudo, em três setores de atividade: (i) Resíduos Sólidos Urbanos (RSU) e Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR), (ii) indústria pecuária e (iii) indústria agroalimentar (Ferreira, Marques, & Malico, 2012). Estima-se que, em 2020, o contributo total do biogás, na produção de energia, seja de 413 GWh, sendo importante promover o aproveitamento do biogás de uma forma racional e integrada nas políticas agrícolas e ambientais. Está prevista, até 2020, a instalação de uma capacidade de 60 MW, para a produção de energia elétrica a partir do biogás (PNAER 2020).

A injeção de biogás, na forma de biometano, na rede de gás natural encontra-se prevista no Decreto-Lei n.º 231/2012, de 26 de outubro, que remete a definição dos requisitos técnicos, de qualidade e de segurança do biogás, bem como os procedimentos aplicáveis ao licenciamento das respetivas instalações de tratamento e à sua injeção nas infraestruturas do Sistema Nacional de Gás Natural (PNAEE, 2020).

O biogás pode ser queimado em motores a gás, de modo a converter a energia mecânica em energia mecânica e térmica. Por sua vez, através de um gerador elétrico, a energia mecânica é convertida em energia elétrica. Contudo, para ser injetado na rede de gás natural, o biogás tem que ser submetido a processos de “up-grading”, envolvendo: (i) descontaminação, em que os componentes vestigiais prejudiciais são removidos, e (ii) melhoramento, em que o CO₂ é removido, para se ajustar o valor do poder calorífico e da densidade relativa, a fim de atender às especificações do gás natural. Após o “up-grading”, o biometano tem que apresentar valores de CH₄ entre 95-97% (v/v) e de CO₂ entre 1-3% (v/v) (Budzianowski, 2012).

Por fim, segundo o Decreto-Lei n.º 225/2007 de 31 de maio, a remuneração dos produtores de energia elétrica a partir de qualquer FER, incluindo o biogás, por cada kWh injetado na rede elétrica, é baseada num somatório de parcelas que contemplam os custos evitados pelo sistema elétrico com a entrada em funcionamento dos produtores em regime especial e os benefícios ambientais proporcionados pelo uso de energias limpas.

Assim, a tarifa renovável é composta essencialmente pela parcela fixa, pela parcela variável e pela parcela ambiental (Equação 2.3)

$$R_b = [f_m \times (P_F + P_V) + P_A \times Z] \times f_p \quad (2.3)$$

Onde,

R_b – Receita bruta (€);

P_F – Parcela fixa (€);

P_V – Parcela variável (€);

P_A – Parcela ambiental (€);

f_m – Fator de modulação;

f_p – Fator de perdas;

Z – Coeficiente de tecnologia.

O coeficiente de tecnologia, para as centrais de valorização energética de biogás, assume os seguintes valores: (i) 9,2, para o biogás resultante da DA de RSU, de lamas de ETAR e de efluentes e resíduos provenientes da agropecuária e da indústria agroalimentar, até ao limite de potência instalada de 150 MW; (ii) 7,5, para o biogás de aterro, até ao limite de uma potência instalada de 20 MW; (iii) 3,8, quando superados os limites de potência instalada a nível nacional estabelecidos na alíneas anteriores.

Em 2012, a eletricidade produzida a partir do biogás não atingia 4% do seu potencial de geração, o que demonstra a necessidade de intensificar os investimentos nesta área. Portugal necessita claramente de promover a implantação de unidades de produção de biogás, de modo a atingir os seus objetivos. Os subsídios ao investimento, as tarifas atraentes, o licenciamento rápido e a possibilidade de injetar o biogás na rede, são áreas onde o Governo Português deve investir (Ferreira et al., 2012).

2.5. Objetivos e carácter inovador da presente dissertação

O objetivo geral da presente dissertação foi o de se avaliar a possibilidade de valorização dos resíduos de CM pré-tratados, através da codigestão anaeróbia com hidrolisado de FORSU.

Os objetivos específicos foram os seguintes:

- Estudar o efeito de diferentes pré-tratamentos mecânicos, químicos e/ou termoquímicos na solubilização de açúcares e produção de inibidores a partir do CM;
- Comparar a quantidade e qualidade do biogás produzido na digestão anaeróbia de hidrolisado de FORSU e na codigestão de CM pré-tratado com hidrolisado de FORSU.

O carácter inovador da presente dissertação reside no estudo da codigestão anaeróbia do CM pré-tratado com hidrolisado FORSU para a produção de biogás. Até ao momento de concretização deste trabalho não foram identificados quaisquer trabalhos publicados nesta área de estudo.

O presente trabalho foi objeto de apresentação numa conferência internacional, com a seguinte referência:

Elena Surra, Suzanna Lancinha, Maria Bernardo, Isabel Fonseca, Rui Ribeiro, José Paulo Mota, Nuno Lapa, Isabel Esteves (2016) A new biorefinery concept to valorize maize cob residues and the organic fraction of municipal solid wastes. *22nd International Sustainable Development Research Society Conference*, 13 – 15 July 2016, Lisbon, Portugal (comunicação oral).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho experimental descrito neste capítulo foi desenvolvido entre dezembro de 2015 e julho de 2016, nos laboratórios do Departamento de Ciências e Tecnologia da Biomassa (DCTB). Ao longo deste período realizaram-se ensaios de digestão anaeróbia, com hidrolisado de FORSU, e codigestão anaeróbia, com misturas de hidrolisado de FORSU e CM pré-tratado. Durante cada ensaio procedeu-se à caracterização dos afluentes e efluentes do digestor, bem como à respetiva medição e caracterização do biogás produzido.

3.1. Substratos orgânicos utilizados como matérias-primas

3.1.1. Tipos e proveniências

O digestor anaeróbio foi, primeiramente, alimentado com hidrolisado de FORSU (Fig. 3.1) proveniente do tanque de hidrólise da Estação de Tratamento e Valorização Orgânica (ETVO), da empresa Valorsul, localizada no Concelho da Amadora (Lisboa, Portugal). Em termos reais, o hidrolisado de FORSU corresponde a uma fração orgânica que resultou de uma hidrólise prévia da FORSU rececionada pela Valorsul, na ETVO.



Figura 3.1 - FORSU proveniente do tanque de hidrólise da ETVO, Valorsul.

De um modo geral, a FORSU rececionada na ETVO é submetida a pré-tratamentos físicos (linha de secos e linha de húmidos) de remoção de contaminantes (plásticos, metais, vidro, outros materiais não biodegradáveis), sendo posteriormente misturada com lamas anaeróbias para se efetuar a sua diluição e inoculação. Esta mistura segue depois para o tanque de hidrólise, no qual é submetida, durante dois dias, a um processo de fermentação anaeróbia (hidrólise e acidogénese), a frio, com a consequente formação de ácidos orgânicos. A FORSU utilizada no presente trabalho corresponde ao efluente do tanque de hidrólise, pelo que, apesar de ser designada por FORSU, não terá a mesma composição que uma FORSU convencional.

A decisão de se utilizar o efluente do tanque de hidrólise como substrato orgânico de base para os ensaios de digestão anaeróbia reside no facto de, no presente trabalho, se pretender simular, à escala laboratorial, o funcionamento dos digestores metanogénicos da ETVO, sem que para isso se tivesse que simular o tanque de hidrólise.

A FORSU foi colhida no sistema de bombagem do tanque de hidrólise para os digestores metanogénicos. As amostras foram recolhidas em garrações de vidro (Schott), de 2 L, e transportadas em malas térmicas com termoacumuladores, de modo a reduzir-se a temperatura das amostras durante o transporte para o laboratório, assegurando-se assim a sua reduzida degradação biológica.

Por sua vez, o CM (Fig. 3.2 e 3.3) usado nos ensaios de codigestão foi colhido em Coruche (Ribatejo, Portugal), durante a ceifa do milho.



Figura 3.2 – Resíduos de CM após a sua colheita.



Figura 3.3 - Resíduos de CM após trituração, com granulometria inferior a 1 mm.

3.1.2. Procedimentos de caracterização

O hidrolisado de FORSU foi caracterizado através da determinação dos seguintes parâmetros: teor de Sólidos Totais (ST), Sólidos Fixos (SF) e Sólidos Voláteis (SV), Carência Química de Oxigénio total (CQOt) e solúvel (CQOs), teores de Azoto (N) Kjeldahl e Amoniacal, e Fósforo total (P). A análise elementar (C, H, N, S) e a concentração de ácidos orgânicos voláteis foi realizada no Laboratório de Análises do REQUIMTE – Departamento de Química.

Por sua vez, o CM foi caracterizado através da determinação dos seguintes parâmetros: ST, SF, SV, N-Kjeldahl e P total. A análise elementar (C, H, N, S) deste substrato foi também realizada no Laboratório de Análises do REQUIMTE – Departamento de Química.

3.1.2.1. Determinação dos teores de sólidos

Os ST foram determinados por evaporação em banho de água, secagem a $103 \pm 2^\circ\text{C}$, numa mufla micro-ondas (marca CEM, modelo MAS 7000), e pesagem em balança analítica (Denver Instrument Company, modelo TR-204, precisão: $\pm 0,1$ mg), até a obtenção de um peso com uma variação inferior a 5% (m/m), de acordo com o método gravimétrico 2540B da APHA/AWWA/WPCF (2005). Os SF foram determinados por calcinação dos ST a $550 \pm 10^\circ\text{C}$, numa mufla micro-ondas (marca CEM, modelo MAS 7000), e posterior pesagem numa balança analítica até se obter uma variação de peso inferior a 5% (m/m), segundo o método gravimétrico 2540E da APHA/AWWA/WPCF (2005). Os ST, SF e SV foram calculados através das Equações 3.1, 3.2 e 3.3, respetivamente.

$$ST = \frac{P_1 - P_0}{V_a} \times 1000 \quad (3.1)$$

Onde,

ST – Sólidos totais (g/L);

P_0 – Tara do cadinho a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ (g);

P_1 – Tara do cadinho + amostra seca a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ (g);

V_a – Volume de amostra (mL).

$$SF = \frac{P_3 - P_2}{V_a} \times 1000 \quad (3.2)$$

Onde,

SF – Sólidos fixos (g/L);

P_2 – Tara do cadinho a $550 \pm 10^\circ\text{C}$ (g);

P_3 – Tara do cadinho + amostra calcinada a $550 \pm 10^\circ\text{C}$ (g);

V_a – Volume de amostra (mL).

$$SV = ST - SF \quad (3.3)$$

Onde,

SV – Sólidos voláteis (g/L);

ST – Sólidos totais (g/L);

SF – Sólidos fixos (g/L).

3.1.2.2. Determinação da CQOt e CQOs

A CQOt foi determinada pelo método volumétrico ISO 15705:2002, através da oxidação das amostras com dicromato de potássio (0,5 N) (Panreac), na presença de sulfato de mercúrio (Riedel-de-Haën) em pó (para se promover a precipitação dos cloretos presentes em solução), em meio acidificado com ácido H_2SO_4 (> 95% v/v) (Fisher Scientific), a uma temperatura de 160°C, durante 60 min. A digestão ácida a quente foi realizada num termo-reator *Behr* (*Labor-Technick*). O excesso de dicromato de potássio, presente no meio após a digestão ácida, foi titulado com sulfato ferroso amoniacal (0,5 N) (Panreac), na presença do indicador corado ferroína.

A CQOs foi determinada de forma semelhante ao descrito anteriormente. Contudo, as amostras foram previamente centrifugadas, numa centrífuga refrigerada (marca *Sigma*, modelo 4K15), em dois ciclos consecutivos de centrifugação (1000 g, durante 20 min e 5000 g, durante 30 min), a uma temperatura de 20°C.

A CQOt e a CQOs foram calculadas a partir da Equação 3.4.

$$CQO = \frac{(V_{t-branco} - V_{t-amostra})}{V_a} \times 8000 \times T \times F_d \quad (3.4)$$

Onde,

CQO – Carência química de oxigénio (mg O_2 /L);

$V_{t-branco}$ – Volume de titulante gasto no branco (mL);

$V_{t-amostra}$ – Volume de titulante gasto na amostra (mL);

V_a – Volume de amostra (mL);

T – Título (N);

F_d – Fator de diluição.

3.1.2.3. Quantificação do azoto Kjeldahl e azoto amoniacal

O azoto Kjeldahl (N-Kjeldahl) representa a soma das frações do azoto amoniacal ($N-NH_4$) e do azoto orgânico (N-Orgânico) presente nas amostras analisadas. O N-Kjeldahl foi quantificado através da norma ISO 5663:1984. As amostras eram submetidas a digestão com H_2SO_4 concentrado (> 95% v/v) (Fisher Scientific), na presença de um catalisador de Zn e Se, a 360°C, durante 3 h. As digestões foram consideradas como estando completas quando as amostras se apresentavam translúcidas. Após a sua digestão, as amostras ácidas foram filtradas através filtros de fibra de vidro (*Schleicher & Schuell*, modelo GF/C), com uma porosidade < 2 μm , para balões de 100 mL. Posteriormente, procedeu-se à toma de um volume de 10 mL de digerido ácido, o qual era alcalinizado com NaOH (6

N) (*Panreac*) até pH $\geq 9,5$. O digerido alcalino era depois destilado, através de uma corrente de vapor (*Tecator Kjeltex System 1002 Distilling Unit*) para uma solução indicadora de ácido bórico. As soluções de ácido bórico, contendo o NH_4^+ proveniente da destilação, eram posteriormente tituladas com ácido sulfúrico (0,02 N) (Fisher Scientific).

O N- NH_4 foi quantificado de modo semelhante ao que foi descrito para o N-Kjeldahl, contudo as amostras não sofreram digestão prévia com H_2SO_4 (ISO 5664:1984).

O N-Kjeldahl, o N- NH_4 e o N-Orgânico foram calculados com base nas Equações 3.5, 3.6 e 3.7, respetivamente:

$$N - Kjeldahl = 0,02 \times 14 \times V_t \frac{V_b}{V_a \times V_c} \times 1000 \quad (3.5)$$

Onde,

$N - Kjeldahl$ – Azoto Kjeldahl (mg N/L);

V_t – Volume de titulante gasto na titulação da solução indicadora de ácido bórico (mL);

V_a – Volume de digerido ácido utilizado na destilação (mL);

V_b – Volume do balão contendo o digerido ácido (mL);

V_c – Volume de amostra inicial submetido à digestão ácida (mL).

$$N - \text{NH}_4 = \frac{V_t \times 280}{V_a} \quad (3.6)$$

Onde,

$N - \text{NH}_4$ – Azoto Amoniacal (mg N/L);

V_t – Volume de titulante gasto na titulação da solução indicadora de ácido bórico (mL);

V_a – Volume de amostra submetido a destilação (mL).

$$N - \text{Orgânico} = N - Kjeldahl - N - \text{NH}_4 \quad (3.7)$$

Onde,

$N - \text{Orgânico}$ – Azoto orgânico (mg N/L);

$N - Kjeldahl$ – Azoto Kjeldahl (mg N/L);

$N - \text{NH}_4$ – Azoto amoniacal (mg N/L).

3.1.2.4. Determinação do fósforo total

Para a determinação do fósforo total (P) foram utilizadas as amostras digeridas provenientes da digestão ácida efetuada para a determinação do N-Kjeldahl. O teor de P destas amostras foi quantificado por espectrofotometria (espectrofotómetro *Shimadzu*, modelo UV-120-11), num comprimento de onda de 880 nm, em ambiente alcalino (pH $\geq 9,5$) e na presença de 8 mL de agente redutor (ISO 6878:2004). O agente redutor foi preparado para um volume final de 200 mL, com 100

mL de H₂SO₄ (5N) (Fisher Scientific), 30 mL de molibdato de amônio (0,032 mol/L) (Riedel-de-Haën), 1,056 g de ácido ascórbico (176,13 M) (Fisher Chemical) e 10 mL de tartarato de potássio (0,0090 mol/L) (MERCK). O volume do reagente redutor foi completado com água ultrapura (Millipore, modelo *Elix 10*). As absorvências das amostras foram comparadas com uma curva de calibração, a qual foi construída com 5 padrões, com massas que variaram entre 0 µg P e 25 µg P.

O fósforo total foi calculado para amostras líquidas e para amostras sólidas através das Equações 3.8 e 3.9.

$$P = \kappa \times \frac{V_b}{V_a \times V_c} \quad (3.8)$$

Onde,

P – Concentração de fósforo (µg P/mL, equivalente a mg P/L);

κ – Valor da massa de fósforo obtido na reta de calibração (µg P);

V_a – Volume de digerido ácido (mL);

V_b – Volume do balão contendo o digerido ácido (mL);

V_c – Volume de amostra inicial submetido à digestão ácida (mL).

$$P = \kappa \times \frac{V_b}{V_a \times M_a} \quad (3.9)$$

Onde,

P – Concentração de fósforo (µg P/g, equivalente a mg P/kg);

κ – Valor da massa de fósforo obtido na reta de calibração (µg P);

V_b – Volume do balão contendo o digerido ácido (mL);

V_a – Volume de digerido ácido (mL);

M_a – Massa de amostra inicial submetida à digestão ácida (g).

3.1.2.5. Análise elementar e análise de ácidos orgânicos voláteis

A análise elementar foi realizada num termo-analisador elementar (marca *CE Instruments*, modelo *Flash EA 1112 CHNS series*), através da aplicação da metodologia CHNS.

Os AOV determinados foram o ácido acético, o ácido fórmico, o ácido propiônico e o ácido butírico. A sua determinação foi realizada por cromatografia líquida, através de um equipamento *Thermo Surveyor* ou *Dionex ICS3000*, com uma coluna *Biorad Aminex 87H*, a uma temperatura de 30°C, e um detetor UV 210 nm. Foi utilizada, como eluente, uma solução 10 mN de H₂SO₄, a um caudal de 0,6 mL/min.

3.2. Pré-tratamento dos resíduos de CM

Uma vez que o CM é uma biomassa celulósica, constituída essencialmente por celulose, mas

também por alguma lenhina e hemicelulose, esta biomassa apresenta uma grande resistência à degradação biológica. Com o objetivo de se aumentar a biodegradabilidade do CM foram aplicados diversos pré-tratamentos mecânicos, químicos e termoquímicos, com o intuito de se avaliar o efeito dos mesmos em termos da (i) remoção de celulose, lenhina e hemicelulose, (ii) formação de compostos inibidores da atividade bacteriana e (iii) solubilização de açúcares.

O CM foi sujeito, inicialmente, a um pré-tratamento mecânico, que consistiu na sua trituração, realizada em duas fases: primeiramente, no Laboratório Nacional de Energia e Geologia (LNEG), foi efetuada uma pré-moagem num moinho Retsch SM 2000, por forma a obterem-se partículas com dimensão situada no intervalo 2-4 mm; posteriormente, este material foi submetido a uma segunda moagem num moinho de lâminas *Taurus* (modelo *Aromatic II*), de modo a obterem-se partículas com dimensão inferior a 1 mm. O material obtido foi crivado através de um crivo (marca *Retsch*), com uma malha de 1 mm.

O CM triturado e crivado foi sujeito a diversos pré-tratamentos de irradiação com micro-ondas, na presença de agentes oxidantes. Os pré-tratamentos com micro-ondas foram realizados numa estação laboratorial micro-ondas (*Milestone*, modelo *Ethos 1600*), nas condições apresentadas na Tabela 3.1. Em todos os pré-tratamentos foram obtidas duas frações: uma fração líquida e uma fração sólida, tendo ambas sido utilizadas no ensaio de codigestão anaeróbia.

Tabela 3.1 - Tipos de pré-tratamentos e respetivas condições aplicadas ao CM.

Tipo de Pré-tratamento	Reagentes	Condições de Pré-tratamento	Código Associado	T (°C)	T (min)
Irradiação Micro-ondas	NaOH	2% m _{NaOH} /m _{CM}	MO/NaOH/2/160	160	10
		4% m _{NaOH} /m _{CM}	MO/NaOH/4/160		
		6% m _{NaOH} /m _{CM}	MO/NaOH/6/160		
		10% m _{NaOH} /m _{CM}	MO/NaOH/10/160		
		20% m _{NaOH} /m _{CM}	MO/NaOH/20/160		
	Glicerol	95% v/v glicerol + 5% v/v H ₂ O	MO/Gli+H ₂ O/160	160	10
		95% v/v glicerol + 5% v/v NaOH (1,0 M)	MO/Gli+NaOH/1M/160		
		95% v/v glicerol + 5% v/v NaOH (1,5 M)	MO/Gli+NaOH/1,5M/160		
	H ₂ O ₂	H ₂ O ₂ /CM (m _{H₂O₂} /m _{CM}) 0,125 + água alcalina (pH 9,8); 2% CM m _{CM} /V _{solução}	MO/H ₂ O ₂ /0,125/100	100	10
		H ₂ O ₂ /CM (m _{H₂O₂} /m _{CM}) 0,25 + água alcalina (pH 9,8); 2% CM m _{CM} /V _{solução}	MO/ H ₂ O ₂ /0,25/100		
		H ₂ O ₂ /CM (m _{H₂O₂} /m _{CM}) 0,5 + água alcalina (pH 9,8); 2% CM m _{CM} /V _{solução}	MO/H ₂ O ₂ /0,5/100		
		H ₂ O ₂ /CM (m _{H₂O₂} /m _{CM}) 1,0 + água alcalina (pH 9,8); 2% CM m _{CM} /V _{solução}	MO/H ₂ O ₂ /1,0/100		
Agentes oxidantes	H ₂ O ₂	H ₂ O ₂ /CM (m _{H₂O₂} /m _{CM}) 0,125 + água alcalina (pH 9,8); 2% CM m _{CM} /V _{solução}	H ₂ O ₂ /0,125/23/240	23	240
		H ₂ O ₂ /CM (m _{H₂O₂} /m _{CM}) 0,25 + água alcalina (pH 9,8); 2% CM m _{CM} /V _{solução}	H ₂ O ₂ /0,25/23/240		
		H ₂ O ₂ /CM (m _{H₂O₂} /m _{CM}) 0,5 + água alcalina (pH 9,8); 2% CM m _{CM} /V _{solução}	H ₂ O ₂ /0,5/23/240		
		H ₂ O ₂ /CM (m _{H₂O₂} /m _{CM}) 0,5 + água alcalina (pH 9,8); 2% CM m _{CM} /V _{solução}	H ₂ O ₂ /1,0/23/240		
		H ₂ O ₂ /CM (m _{H₂O₂} /m _{CM}) 0,5 + água alcalina (pH 9,8); 2% CM m _{CM} /V _{solução}	H ₂ O ₂ /1,0/23/240		

3.2.1. Determinação dos teores de celulose, lenhina e hemicelulose

A determinação dos teores de celulose, lenhina e hemicelulose foi feita em várias fases, pelo método de Van Soest (Goering & Van Soest, 1970). Assim, primeiramente, os cadinhos de Goosh, tipo P2, foram colocados numa mufla de micro-ondas (marca *CEM*, modelo *MAS 7000*) durante 2h, a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ (P0) e $550 \pm 10^\circ\text{C}$ (P1), sendo pesados depois de terem arrefecido, obtendo assim a sua tara. Num tubo de CQO foi colocada uma massa da amostra seca, 0,25 g de sulfito de sódio (Riedel-de-Haën) e 100 mL de reagente neutro, constituído por 30 g de n-dodecilsulfato de sódio (Riedel-de-Haën), 10 mL de etilenoglicol (Riedel-de-Haën), 18,61 g de $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Himedia), e 6,81 g de tetraborato de sódio decahidratado (Riedel-de-Haën), e 800 mL de água desmineralizada quente (marca *Millipore*, modelo *Elix 5*). Esta mistura foi digerida durante 60 min, a 140°C , e, posteriormente, filtrada com o auxílio de uma bomba de vácuo (marca *Vacuubrand*), seca numa estufa (marca *Memmert*), durante a noite, a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ e pesada (P2), sendo possível determinar a fibra total (% m/m), através da Equação 3.10.

A massa de amostra que ficou no cadinho de Goosh foi passada para um tubo de CQO juntamente com 50 mL de reagente ácido, constituído por 20 g de brometo de n-acetil-n,n,n-trimetil amónio (Acros Organics) e perfazer até 1L com H_2SO_4 (1N) (Fisher Scientific), e digerida durante 60 min, a 140°C . Após a digestão, a amostra foi filtrada com o auxílio de uma bomba de vácuo (marca *Vacuubrand*), seca numa estufa (marca *Memmert*), durante a noite, a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ e pesada (P3), sendo possível determinar a celulose (% m/m), através da Equação 3.11.

A massa de amostra que ficou no cadinho de Goosh depois da digestão com detergente ácido foi, novamente, passada para um tubo de CQO com 10 mL de H_2SO_4 (72% v/v) (Fisher Scientific), e digerida durante 60 min, a 140°C . Após a digestão, a amostra foi filtrada com o auxílio de uma bomba de vácuo (marca *Vacuubrand*), seca numa estufa (marca *Memmert*), durante a noite, a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ e pesada (P4), sendo possível determinar a lenhina (% m/m), através da Equação 3.12.

A amostra que fica no cadinho de Goosh foi colocada numa mufla (marca *CEM*, modelo *MAS 7000*) durante 3h, a $550 \pm 10^\circ\text{C}$, e, posteriormente, pesada (P5), de modo a obter as cinzas, através da Equação 3.13.

Por fim, a hemicelulose é calculada a partir da diferença entre a fibra total, a celulose e a lenhina, tal como referido na Equação 3.14.

Todas as digestões foram realizadas num termo-reator da marca *Behr Labor-Technick*.

$$Fibra\ Total = \frac{P_2 - P_0 - Cinzas}{m_0} \times 100\% \quad (3.10)$$

Onde,

Fibra Total – Percentagem de fibra total na amostra (% m/m);

P_0 – Tara do cadinho a 105°C (g);

P_2 – Tara do cadinho + amostra, após a digestão com detergente neutro, e seca a 105°C (g);

Cinzas – Massa de cinzas na amostra (g);

m_0 – Massa inicial de amostra (g).

$$Celulose = \frac{P_3 - Lenhina - P_0 - Cinzas}{m_0} \times 100\% \quad (3.11)$$

Onde,

Celulose – Percentagem de celulose na amostra (% m/m);

P_0 – Tara do cadinho a 105°C (g);

P_3 – Tara do cadinho + amostra, após a digestão com detergente ácido, e seca a 105°C (g);

Cinzas – Massa de cinzas na amostra (g);

Lenhina – Massa de lenhina na amostra (g);

m_0 – Massa inicial de amostra (g).

$$Lenhina = \frac{P_4 - P_0 - Cinzas}{m_0} \times 100\% \quad (3.12)$$

Onde,

Lenhina – Percentagem de lenhina na amostra (% m/m);

P_0 – Tara do cadinho a 105°C (g);

P_4 – Tara do cadinho + amostra, após digestão com H₂SO₄ (72% v/v), e seca a 105°C (g);

Cinzas – Massa de cinzas na amostra (g);

m_0 – Massa inicial de amostra (g).

$$Cinzas = \frac{P_5 - P_1}{m_0} \times 100\% \quad (3.13)$$

Onde,

Cinzas – Massa de cinzas na amostra (g);

P_1 – Tara do cadinho a 550°C (g);

P_5 – Tara do cadinho + amostra, após a digestão com H₂SO₄ (72% v/v) e seca a 105°C, calcinada a 550°C (g);

m_0 – Massa inicial de amostra (g).

$$Hemicelulose = Fibra Total - Celulose - Lenhina \quad (3.14)$$

Onde,

Hemicelulose – Percentagem de hemicelulose na amostra (% m/m);

Fibra Total – Percentagem de fibra total na amostra (% m/m);

Celulose – Percentagem de celulose na amostra (% m/m);

Lenhina – Percentagem de lenhina na amostra (% m/m).

A percentagem de remoção de celulose, lenhina e hemicelulose foram determinadas com base nas Equações 3.15, 3.16 e 3.17, respetivamente.

$$\% \text{ remoção celulose} = 1 - \frac{\% \text{ celulose após pré-tratamento}}{\% \text{ celulose CM}} \times 100\% \quad (3.15)$$

Onde,

% remoção celulose – Percentagem de remoção de celulose no CM;

% celulose após pré – tratamento – Percentagem de celulose no CM após o pré-tratamento;

% celulose CM – Percentagem de celulose no CM antes da realização do pré-tratamento.

$$\% \text{ remoção lenhina} = 1 - \frac{\% \text{ lenhina após pré-tratamento}}{\% \text{ lenhina CM}} \times 100\% \quad (3.16)$$

Onde,

% remoção lenhina – Percentagem de remoção de lenhina no CM;

% lenhina após pré – tratamento – Percentagem de lenhina no CM após o pré-tratamento;

% lenhina CM – Percentagem de lenhina no CM antes da realização do pré-tratamento.

$$\% \text{ remoção hemicelulose} = 1 - \frac{\% \text{ hemicelulose após pré-tratamento}}{\% \text{ hemicelulose CM}} \times 100\% \quad (3.17)$$

Onde,

% remoção hemicelulose – Percentagem de remoção de hemicelulose no CM;

% hemicelulose após pré – tratamento – Percentagem de hemicelulose no CM após o pré-tratamento;

% hemicelulose CM – Percentagem de hemicelulose no CM antes da realização do pré-tratamento.

3.2.2. Determinação da concentração de compostos inibidores e açúcares

A concentração de compostos inibidores e açúcares foi analisada no Laboratório de Análises do REQUIMTE – Departamento de Química. Os compostos inibidores analisados foram os compostos fenólicos, nomeadamente ácido ferúlico, ácido p-cumárico, ácido p-hidroxibenzóico, ácido vanílico, ácido gálico, ácido tânico, ácido clorogénico, ácido cafeico e ácido salicílico, bem como o 5-(hidroximetil)-2-furfural e o furfural.

Os compostos fenólicos foram determinados através de cromatografia líquida, num equipamento *Dionex ICS3000*, com uma coluna *Waters Novapak C 18* e com um detetor de fotodíodos a 280 nm, 320 nm e 365 nm. O eluente utilizado foi uma solução de metanol padronizado com 2% de CH₃COOH, a 30°C. Os furfurais foram também determinados por cromatografia líquida, através de um equipamento *Thermo Surveyor* ou *Dionex ICS3000*, com uma coluna *Biorad Aminex 87H*, o eluente com 10 mN de H₂SO₄, a 0,6 mL/min, a uma temperatura de 30°C, e um detetor UV 280 nm.

Os açúcares analisados foram a arabinose, xilose, glucose e frutose. Estes açúcares foram determinados por cromatografia líquida, através de um equipamento *Dionex ICS3000*, com uma coluna *Dionex Carbpac PA10 250x4 mm*, a uma temperatura de 30°C, e um detetor PAD – Pulsed Amperometric Detection. Foi utilizado NaOH 18 mN como eluente.

3.3. Unidade laboratorial de DA e condições de operação

Os ensaios de digestão anaeróbia foram realizados num fermentador de bancada (*New Brunswick Scientific*, modelo *BIOFLO 1000*) (Fig. 3.4), constituído por um vaso cilíndrico de vidro, com um volume útil de 2,1 L. Os ensaios foram realizados a uma temperatura de aproximadamente 50 ± 1°C (gama termófila) e um pH de 8,2 ± 0,1.

O fermentador é aquecido através de uma cinta de aquecimento disposta ao seu redor, que se encontrava ligada a um módulo de controlo digital da temperatura. Na parte superior do digestor encontram-se instalados os elétrodos de pH e potencial redox, bem como o termopar destinados à monitorização contínua destes parâmetros no líquido contido no fermentador.

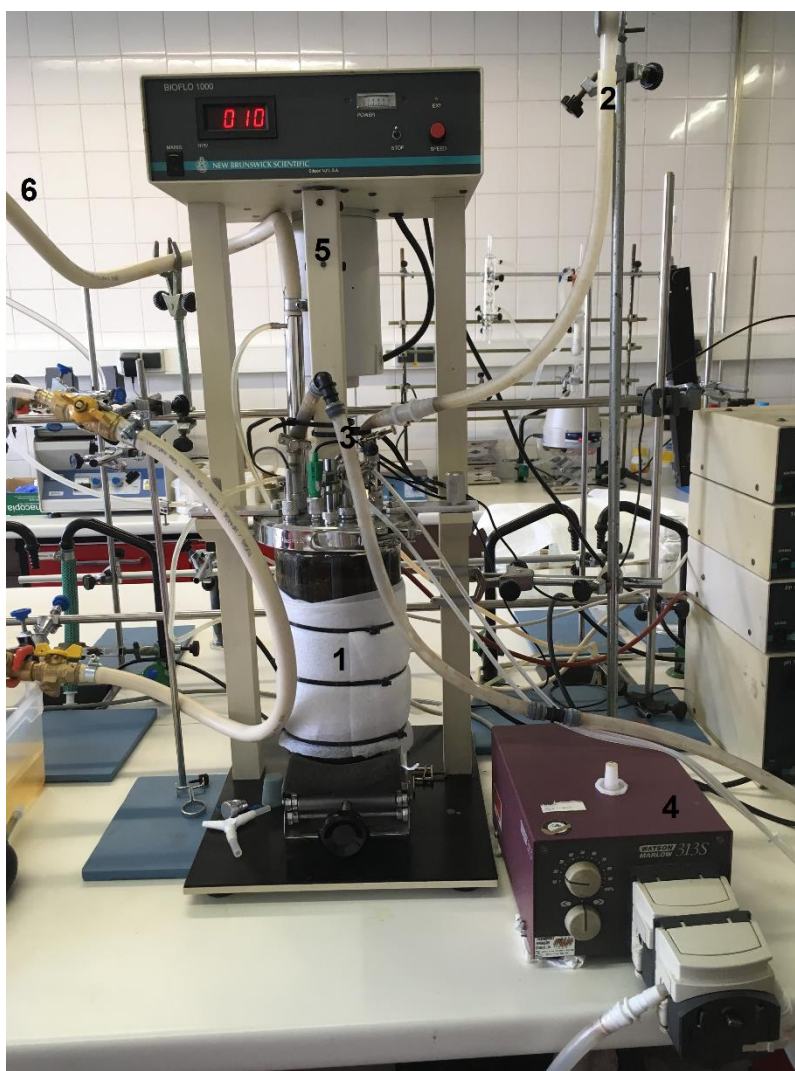


Figura 3.4 - Fermentador *New Brunswick Scientific*, modelo *BIOFLO 1000*. (1) Vaso de fermentação com cinta de aquecimento e poliéster de isolamento; (2) Entrada do afluente; (3) Saída do efluente; (4) Bomba peristáltica para retirada do efluente; (5) Sistema de agitação com motor externo, eixo de transmissão e pás no interior do fermentador (pás não visíveis na imagem); (6) Tubo de saída do biogás com condensador.

Nos ensaios de digestão do hidrolisado de FORSU foram reproduzidas as condições de operação da ETVO: TRH de 21 dias; T de $50 \pm 1^\circ\text{C}$; ST de cerca de 5,6% m/v; SV de cerca de 4,5% m/v. Posteriormente, nos ensaios de codigestão do hidrolisado de FORSU com CM pré-tratado, promoveu-se a redução do TRH para cerca de 13,6 dias.

Todos os ensaios foram realizados em fluxo semi-contínuo, com uma alimentação intermitente em intervalos regulares de 48 h (segundas, quartas e sextas-feiras). O volume de substrato alimentado

ao digestor em cada um destes dias correspondeu ao volume total semanal (7 dias), dividido por três alimentações iguais. Este procedimento permitiu manter o digestor em funcionamento estável, com produções constantes de biogás. A agitação do digestor foi mantida permanentemente ligada, a uma velocidade muito reduzida (cerca de 10 rpm), de modo a não perturbar o consórcio de microrganismos anaeróbios existente no digestor.

A medição do volume de biogás produzido foi feita a partir de duas colunas de acrílico (Fig. 3.5), preenchidas com água desmineralizada (*Millipore*, modelo *Elix 5*). As colunas tinham um diâmetro interno de 9,2 cm e 9,0 cm, e uma altura de 51,7 cm (precisão de $\pm 0,1$ cm). Assim, o volume total das colunas era de 3437 cm³ e 3289 cm³.

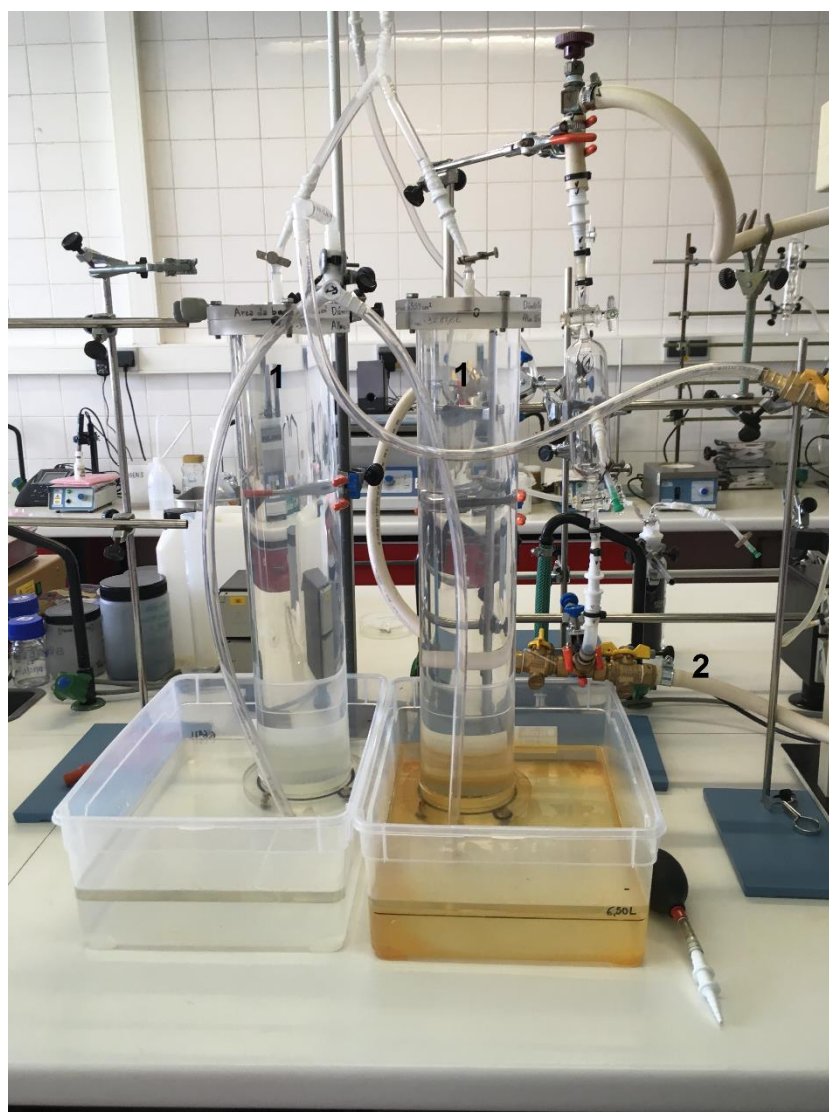


Figura 3.5 - Sistema de armazenamento e medição do volume de biogás. (1) Colunas de acrílico; (2) Tubo de condução do biogás do digestor para as colunas.

Na Figura 3.6 apresenta-se o diagrama geral da unidade laboratorial de digestão anaeróbia. O biogás ao sair do digestor anaeróbio podia seguir para as colunas de água, de modo a ser medido o seu

volume, ou ser enviado diretamente para uma coluna de carvão ativado (Darco H₂S, Cabot), destinada à remoção de H₂S.

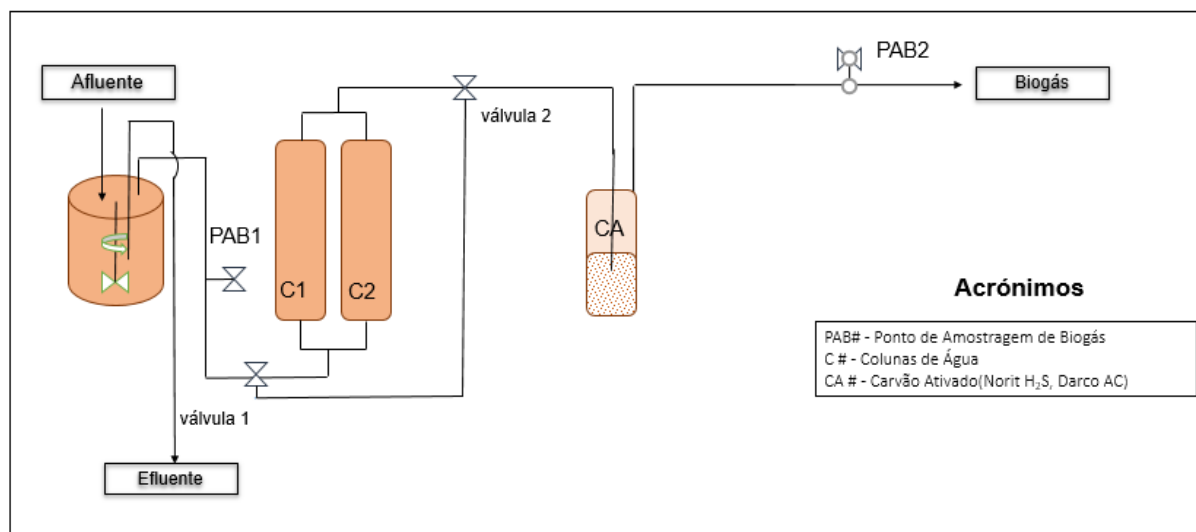


Figura 3.6 - Esquema da unidade laboratorial de digestão anaeróbia.

3.4. Ensaio de DA

Com o objetivo de se avaliar o efeito sinérgico da codigestão do hidrolisado de FORSU e CM pré-tratado no rendimento de biogás e de CH₄, foram realizados ensaios de codigestão com estes dois resíduos, bem como ensaios de digestão anaeróbia com hidrolisado de FORSU, para efeitos de comparação.

3.4.1. Inoculação do digestor anaeróbio

O digestor foi inoculado com lama anaeróbia obtida a partir dos reatores metanogênicos da ETVO, de modo a garantir a presença de população metanogênica. Foi introduzido um volume de lama de 525 mL, sendo esta constituída por 2,8% (m/v) de ST e 1,7% (m/v) de SV.

3.4.2. Alimentação do digestor anaeróbio

A alimentação do digestor era feita três vezes por semana com o auxílio de um funil ligado ao tubo de alimentação, encontrando-se este totalmente preenchido para evitar a entrada de ar no digestor. A alimentação era realizada com o auxílio uma bomba peristáltica (marca *Watson Marlow*, modelo 313S), e do interior do digestor era retirado, simultaneamente, um volume de efluente semelhante ao volume de afluente introduzido. Entre as alimentações, todos os tubos eram fechados com pinças, de modo a não permitir a entrada de ar no digestor.

Como foi referido anteriormente, durante a digestão anaeróbia de hidrolisado de FORSU foram reproduzidas as condições de operação da EVTO. Assim, com um TRH de 21 dias, o digestor era alimentado com um volume equivalente a 100 mL/dia. Como a alimentação se efetuava três vezes por semana, o volume de substrato efetivamente adicionado ao digestor em cada alimentação era de 100 mL/dia x 7 dias/semana / 3 dias de alimentação por semana = 233,3 mL três vezes/semana. Por sua vez, durante a codigestão anaeróbia de hidrolisado de FORSU com CM pré-tratado, a carga

orgânica de SV foi aumentada em 15%, logo o digestor era alimentado, no total, com 139,0 mL/dia, isto é, 324,3 mL três vezes/semana.

De modo a evitarem-se alterações bruscas na temperatura no interior do digestor, que poderiam reduzir a atividade biológica e, conseqüentemente, afetar o seu rendimento, o afluente era previamente aquecido num banho de água (marca *P Selecta*, modelo *Precisdig*), até uma temperatura de cerca de $50 \pm 1^\circ\text{C}$.

3.4.3. Caracterização dos afluentes e efluentes

Os afluentes e efluentes de digestão e codigestão anaeróbia foram caracterizados relativamente aos seguintes parâmetros: ST, SF e SV, CQOt e CQOs, N-Kjeldahl e N-NH₄, e P. A caracterização elementar (C, H, N, S) e a concentração de ácidos orgânicos voláteis foi realizada no Laboratório de Análises do REQUIMTE – Departamento de Química. Todos estes parâmetros foram determinados segundo a metodologias descritas nas seções 3.1.2.1 a 3.1.2.5.

Considerou-se que o digestor se encontrava em equilíbrio dinâmico quando a produção de biogás se mantinha constante numa semana consecutiva. Em termos práticos, verificou-se que o equilíbrio dinâmico foi atingido sensivelmente após 1,5 vezes TRH de cada ensaio.

3.4.4. Análise quantitativa e qualitativa do biogás

A quantificação do biogás foi efetuada através da medição da sua altura nas colunas de armazenamento, a partir de uma escala graduada. Sabendo-se a dimensão das secções internas das colunas, o cálculo do volume de biogás foi realizado com base na Equação 3.18.

$$V_{\text{Biogás}} = \pi \times r^2 \times h \quad (3.18)$$

Onde,

$V_{\text{Biogás}}$ – Volume de biogás (cm³);

r – Raio da secção interna das colunas de armazenamento do biogás (cm);

h - Altura do biogás nas colunas de armazenamento (cm).

O laboratório foi mantido a uma temperatura constante de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, por forma a não ocorrer variação do volume do biogás, devido a alterações de temperatura.

As amostras de biogás destinadas a caracterização foram colhidas no ponto PAB1, em sacos *Tedlar*, apenas quando o digestor se encontrava em equilíbrio dinâmico. Assim, no ensaio de digestão anaeróbia de hidrolisado da FORSU foram recolhidas 3 amostras, enquanto que no ensaio de codigestão anaeróbia de hidrolisado da FORSU + CM pré-tratado foram recolhidas 2 amostras.

A composição do biogás foi determinada por cromatografia, no LNEG, com um equipamento da marca *Varian 430 GC Gas Chromatography*. Foi injetando um volume de 0,5 mL de amostra de biogás e sendo He o gás de arraste. O equipamento funcionava com duas colunas (Select Permanent gases/CO₂HR e Molsieve 5^A/CP7430) ligadas em paralelo. A amostra entrava na primeira coluna a

80°C e passava para a segunda coluna a 120°C. Esta metodologia permitiu quantificar os seguintes gases: CH₄, CO₂, O₂, N₂. O H₂S foi quantificado com um equipamento da marca *VARIAN*, modelo CP-3800. Foi utilizado um detetor de fotoionização de chama pulsada à temperatura de 200°C, uma coluna CP-SIL 5CB, à temperatura de 40°C e sendo He o gás de arraste.

O volume de CH₄ no biogás foi calculado através da Equação 3.19.

$$V_{CH_4} = \frac{\%CH_4 \times V_{Biogás}}{100\%} \quad (3.19)$$

Onde,

V_{CH_4} – Volume de CH₄ produzido (cm³);

$\%CH_4$ – Percentagem de CH₄ no biogás (%);

$V_{Biogás}$ – Volume de biogás (cm³).

3.4.5. Cargas aplicadas, eficiência de remoção e rendimentos de produção

De modo a avaliar-se a eficiência de degradação dos substratos orgânicos utilizados durante os ensaios de digestão e codigestão anaeróbia, foram calculadas as cargas volúmicas de SV introduzidas no digestor, as eficiências de remoção e os rendimentos de produção de biogás e CH₄, relativamente à carga volúmica SV.

As cargas volúmicas de SV introduzidas no digestor, nos ensaios realizados, foram calculadas através da Equação 3.20:

$$Carga\ SV = \frac{SV_a \times V_a}{V_r} \quad (3.20)$$

Onde,

$Carga\ SV$ – Carga volúmica de SV aplicada no digestor (g SV/(L dia));

SV_a – Concentração de SV no afluente (g SV/L);

V_a – Volume de afluente introduzido no digestor (L/dia);

V_r – Volume útil do digestor (L).

As eficiências de remoção de SV, em ambos os ensaios realizados, foram determinadas a partir da Equação 3.21.

$$Eficiência\ SV = \frac{SV_a - SV_e}{SV_a} \times 100\% \quad (3.21)$$

Onde,

$Eficiência\ SV$ – Eficiência de remoção de SV (%);

SV_a – Concentração de SV no afluente (g SV/L);

SV_e – Concentração de SV no efluente (g SV/L).

Os rendimentos de produção de biogás e de CH₄, foram calculados relativamente à carga volúmica de SV. Assim, através das Equações 3.22 e 3.23, respetivamente, foi possível calcular os rendimentos de produção de biogás e de CH₄, em relação à carga de SV.

$$\eta_{biogás/SV} = \frac{V_{biogás}}{Carga\ SV \times V_r} \quad (3.22)$$

Onde,

$\eta_{biogás/SV}$ – Rendimento de produção de biogás em relação à carga de SV (L biogás/g SV);

$V_{biogás}$ – Volume de biogás produzido (L_{biogás}/dia);

$Carga\ SV$ – Carga volúmica de SV aplicada no digestor (g SV/(L dia));

V_r – Volume útil do digestor (L).

$$\eta_{CH_4/SV} = \frac{V_{CH_4}}{Carga\ SV \times V_r} \quad (3.23)$$

Onde,

$\eta_{CH_4/CQOt}$ – Rendimento de produção de CH₄ em relação à carga de SV (L CH₄/g SV);

V_{CH_4} – Volume de CH₄ produzido (L_{CH₄}/dia);

$Carga\ SV$ – Carga volúmica de SV aplicada no digestor (g SV/(L dia));

V_r – Volume útil do digestor (L).

3.5. Análise estatística

A significância estatística das diferenças entre os parâmetros avaliados nos pré-tratamentos realizados (remoção de celulose, lenhina e hemicelulose, concentração de compostos inibidores e concentração de açúcares) foi realizada através da análise de variância (ANOVA), com um nível de significância $p < 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização química das matérias-primas

Na Tabela 4.1 apresentam-se os resultados obtidos da caracterização química do hidrolisado da FORSU.

Tabela 4.1 - Caracterização química do hidrolisado da FORSU ($\bar{x} \pm \sigma, n = 3$).

Parâmetro	Valor
ST (% m/v)	5,6±0,5
SV (% m/v)	4,5±0,3
SF (% m/v)	1,1±0,1
CQOt (g O ₂ /L)	87,7±4,4
CQOs (g O ₂ /L)	32,7±1,9
N-Kjeldahl (g N/L)	2,87±0,07
N-NH ₄ (g N/L)	1,50±0,09
N-orgânico (g N/L)	1,37±0,13
P-total (mg P/L)	494±75

\bar{x} : média; σ : desvio padrão; n : número de replicados

Nas Tabelas 4.2 e 4.3 apresenta-se composição elementar e de AOV do hidrolisado da FORSU, respectivamente.

Tabela 4.2 – Análise elementar do hidrolisado da FORSU ($\bar{x} \pm \sigma, n = 3$).

Parâmetro	Valor
C (% m/v)	3,76±0,30
N (% m/v)	0,40±0,02
H (% m/v)	9,40±1,55
S (% m/v)	<0,01

\bar{x} : média; σ : desvio padrão; n : número de replicados

Tabela 4.3 - Composição de AOV do hidrolisado da FORSU ($\bar{x} \pm \sigma, n = 3$).

Parâmetro	Valor
Ácido acético (g/L)	4,00±1,13
Ácido fórmico (g/L)	2,08±2,90
Ácido propiónico (g/L)	1,63±1,00
Ácido butírico (g/L)	1,79±1,83

\bar{x} : média; σ : desvio padrão; n : número de replicados

A partir da Tabela 4.1 pode-se concluir que a percentagem de ST (5,6% m/v) e SV (4,5% m/v) reflete a relativamente baixa carga de sólidos com que o sistema é alimentado (2,7 g ST/(L.dia) e 2,16 g SV/(L.dia)). De acordo com a dissertação de Neto (2011), os valores obtidos de ST e SV foram, respetivamente, 4,7% (m/v) e 3,7% (m/v), para o hidrolisado da FORSU.

Os valores médios de CQOt e CQOs do hidrolisado da FORSU foram de 87,68 g O₂/L e 32,69 g O₂/L, respetivamente, sendo ligeiramente superiores aos valores encontrados na literatura. Elsamadony et al., 2015 indicam valores de CQOt de 65,78±0,61 g O₂/L na FORSU. Por sua vez, na dissertação de Neto (2011) foi apresentado um valor de CQOt de 62,63 mg O₂/L para o hidrolisado da FORSU.

Os teores médios de N-Kjeldahl, N-NH₄⁺ e N-orgânico foram de 2,87 g N/L, 1,50 g N/L e 1,37 g N/L, respetivamente. Elsamadony et al. (2015) indicam valores de N-Kjeldahl de 2,1 g N/L, sendo semelhante ao obtido. No entanto, o valor de N-NH₄ indicado por Elsamadony et al. (2015) é de 0,33 g N/L, logo inferior ao obtido. Contudo, o valor de N-NH₄⁺ indicados na dissertação de Neto (2011) é de 0,60 g N/L, sendo também inferior ao obtido na presente dissertação.

No que diz respeito à análise elementar (Tabela 4.2), a percentagem de N obtida através da análise elementar está em concordância com o valor de N-Kjeldahl obtido através da quantificação deste parâmetro por digestão ácida e destilação em corrente de vapor (0,3% m/v). A razão C/N do hidrolisado da FORSU é de 9,5:1, enquanto que a razão C:N:P é 76:6:1, enquanto que a razão ótima de C/N para a DA está entre 20 e 35 (X. Wang et al., 2012), e a razão ótima de C:N:P para a produção de NH₄ é 200:5:1 (Mao et al., 2015).

Os teores de AOV no hidrolisado de FORSU, nomeadamente de ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico e ácido butírico foram de 4,00 mg/L, 2,08 mg/L, 1,63 mg/L e 1,79 mg/L, respetivamente. Os valores obtidos são superiores aos apresentados por Elsamadony et al. (2015) com 3,47 mg/L de ácido acético, 0,53 mg/L de ácido propiónico e 2,84 mg/L de ácido butírico.

Nas tabelas 4.4 a 4.6 apresentam-se os resultados obtidos na caracterização química e elementar do CM, bem como os teores de celulose, lenhina, hemicelulose e cinzas do mesmo.

Tabela 4.4 - Caracterização química do CM ($\bar{x} \pm \sigma, n = 3$)

Parâmetro	Valor
ST (% m/m)	91,2±3,9
SV (% m/m)	89,6±3,9
SF (% m/m)	1,5±0,1
N-Kjeldahl (g N/kg)	2,31±0,67
P-total (mg P/kg)	352±49,7

\bar{x} : média; σ : desvio padrão; n : número de replicados

Tabela 4.5 - Caracterização elementar do CM ($\bar{x} \pm \sigma, n = 2$)¹.

Parâmetro	Valor
C (% m/m)	41,69±0,21
N (% m/m)	0,07±0,01
H (% m/m)	5,59±0,16
S (% m/m)	<0,01

\bar{x} : média; σ : desvio padrão; n : número de replicados

Tabela 4.6 - Teores de celulose, lenhina e hemicelulose do CM.

Parâmetro	Valor
Celulose (% m/m)	29,77
Lenhina (% m/m)	19,30
Hemicelulose (% m/m)	45,25
Cinzas (% m/m)	1,17

O CM apresenta 91,2% (m/m) de ST, sendo 89,64% (m/m) de SV e 1,55% (m/m) de SF. De acordo com Yao & Xu (2016) o CM pode apresentar valores de 79,25% (m/m) de SV, e 2,24% (m/m) de SF, sendo comparáveis aos obtidos na presente dissertação.

Os teores médios de azoto e fósforo foram 2,31 g N/kg e 352 mg P/kg, respetivamente. Relativamente à caracterização elementar (Tabela 4.5), obteve-se 41,69% (m/m) de C, 0,06% (m/m) de N, 5,58% (m/m) de H e um teor de S inferior ao limite de quantificação (<0,01% m/m). Estes valores estão em concordância com os valores apresentados por Yao & Xu (2016), com exceção do teor de N, em que este obteve 5,6 g N/kg.

Os teores de celulose, lenhina e hemicelulose, respetivamente, foram de 29,77% (m/m), 19,30% (m/m) e 45,25% (m/m). Os teores de celulose e lenhina obtidos são comparáveis aos obtidos por Torre et al., 2008, que obtiveram valores de 31,7% (m/m) de celulose e 20,3% (m/m) de lenhina. Contudo, os teores de hemicelulose diferem dos obtidos pelos autores referidos anteriormente, com 34,7% (m/m) de hemicelulose.

4.2. Pré-tratamento dos resíduos de CM

Os diferentes pré-tratamentos efetuados ao CM tiveram como finalidade melhorar a acessibilidade e/ou a solubilização da fração orgânica, através da rutura das paredes celulares originando partículas mais acessíveis à hidrólise biológica. Desta forma, a eficiência do pré-tratamento foi avaliada em termos de remoção dos teores de celulose, lenhina e hemicelulose, solubilização de açúcares e presença de inibidores.

Os resultados obtidos na solubilização de açúcares, produção de inibidores, e remoção de lenhina, celulose e hemicelulose após o pré-tratamento, são apresentados nas Figuras 4.1 a 4.3.

Relativamente à concentração de açúcares, apenas foi detetada glucose e frutose na fração líquida (Fig. 4.1).

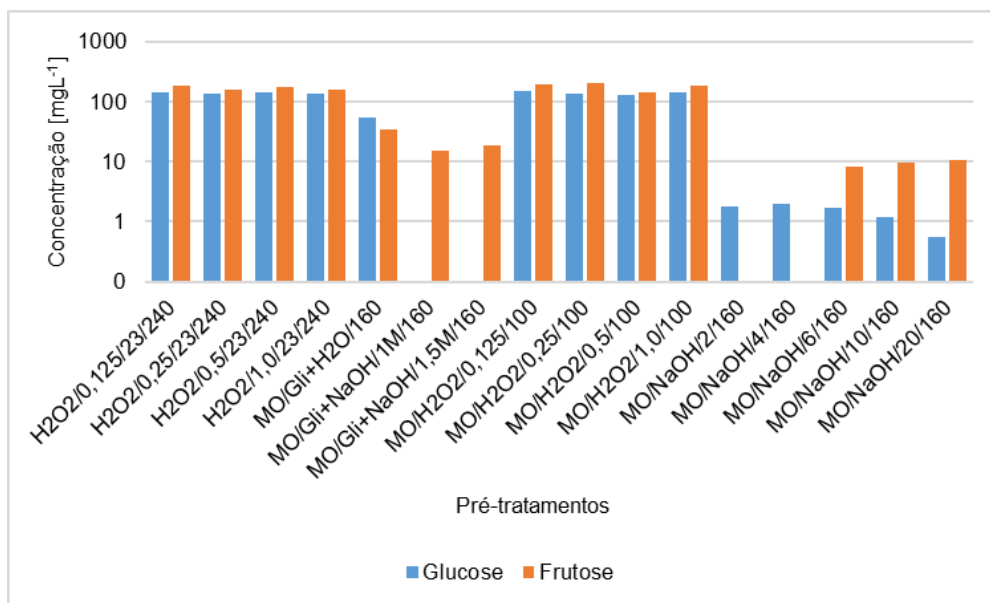


Figura 4.1 - Concentração de açúcares na fração líquida de cada um dos pré-tratamentos realizados.

Dos pré-tratamentos realizados com micro-ondas, aqueles em que se utilizou o H_2O_2 como catalisados foram os que solubilizaram uma concentração mais elevadas de glucose e de frutose, em média 142 mg/L de glucose e 184 mg/L de frutose. De acordo com a análise estatística, não existem diferenças significativas ($p < 0,05$), na solubilização de glucose e frutose nas diferentes razões H_2O_2/CM estudadas.

Por sua vez, os pré-tratamentos com micro-ondas, na presença de NaOH foram os que solubilizaram uma menor quantidade de glucose (1,9 mg/L com NaOH 4% m_{NaOH}/m_{CM}) e frutose (10,9 mg/L com NaOH 20% m_{NaOH}/m_{CM}), em qualquer uma das concentrações de NaOH testadas. A pouca solubilização dos açúcares pode ser explicada pelo baixo tempo de reação (10 min), em comparação com o tempo de reação aplicado por (Cher et al., 2013) no pré-tratamento de palha de milho com micro-ondas. Estes autores alcançaram 22,5% de remoção de xilose, durante 75 min utilizando palha de milho e NaOH 10% (m_{NaOH}/m_{CM}).

O pré-tratamento assistido por micro-ondas com glicerol apresentou uma baixa solubilização de açúcares. Na presença de uma solução aquosa de glicerol, a concentração de glucose e frutose foi, respetivamente, de 53,8 mg/L e 34,5 mg/L, enquanto que, com uma solução alcalina de glicerol com NaOH 1 M e 1,5 M, a concentração de açúcares foi ainda mais baixa (não foi detetada a presença de glucose e a concentração da frutose foi inferior a 20 mg/L).

O pré-tratamento químico com H_2O_2 , à temperatura ambiente, mostrou uma melhor solubilização de glucose e frutose, com valores de concentração na fração líquida semelhantes aos obtidos no pré-tratamento com H_2O_2 assistido por micro-ondas, com concentrações médias, de 144 mg/L de glucose e 173 mg/L de frutose. Não se verificaram diferenças estatísticas ($p < 0,05$) em termos de solubilização de glucose e frutose, entre pré-tratamentos realizados à temperatura ambiente, nas diferentes razões H_2O_2/CM estudadas.

Com base nestes resultados, é possível concluir-se que os pré-tratamentos com H₂O₂, assistidos por micro-ondas, não acrescentam nenhum valor significativo, em termos de solubilização de açúcares, em comparação com o mesmo pré-tratamento realizado à temperatura ambiente.

No que diz respeito à concentração de inibidores, não foram detetados furfurais, nem 5-(hidroximetil)-2-furfural em quaisquer amostras pré-tratadas analisadas (limite de deteção <3,5 mg/L e <3,9 mg/L, respetivamente). Na Figura 4.2 é possível observar as concentrações de compostos fenólicos detetadas nas frações líquidas das amostras após o pré-tratamento.

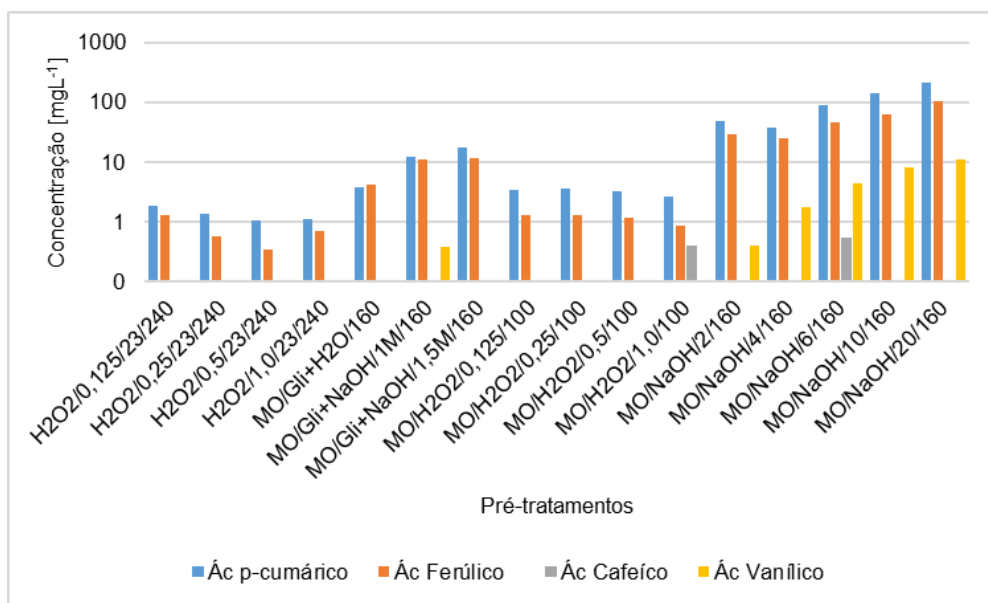


Figura 4.2 - Concentração de inibidores na fração líquida de cada um dos pré-tratamentos realizados.

O ácido p-cumárico e o ácido ferúlico foram os dois principais compostos fenólicos produzidos durante os pré-tratamentos. Por sua vez, em concentrações menores, os ácidos cafeíco e vanílico foram detetados, principalmente, nas amostras pré-tratadas com NaOH e em todas as concentrações de NaOH testadas.

A concentração máxima de compostos fenólicos foi detetada em amostras pré-tratadas com micro-ondas e na presença de NaOH, com um valor médio de 215 mg/L de ácido p-cumárico e de 105 mg/L de ácido ferúlico, nas amostras pré-tratadas com NaOH 20% ($m_{\text{NaOH}}/m_{\text{CM}}$). Por sua vez, também nos pré-tratamentos realizados com micro-ondas, na presença de glicerol e NaOH (NaOH 1 M e NaOH 1,5 M), foram detetados, em média, 15,3 mg/L de ácido p-cumárico e 11,5 mg/L de ácido ferúlico, reforçando a ideia que o NaOH desempenha um papel importante na formação de compostos fenólicos.

Por fim, os pré-tratamentos realizados na presença de H₂O₂, quer com micro-ondas, quer à temperatura ambiente, produziram a menor concentração de compostos fenólicos, não excedendo 5

mg/L para todos os compostos fenólicos analisados. Assim, a menor concentração de inibidores foi encontrada no pré-tratamento à temperatura ambiente, com razão H_2O_2/CM de 0,5.

Do ponto de vista de remoção de lenhina, de celulose e de hemicelulose, os resultados obtidos (Fig. 4.3) mostram que não ocorreu remoção de lenhina em nenhum dos pré-tratamentos realizados. A remoção de celulose não excedeu 11,3% ($H_2O_2/0,5/23/240$), e a remoção de hemicelulose foi mais elevada no pré-tratamento $MO/NaOH/20/160$, com uma percentagem de remoção de 34,7%.

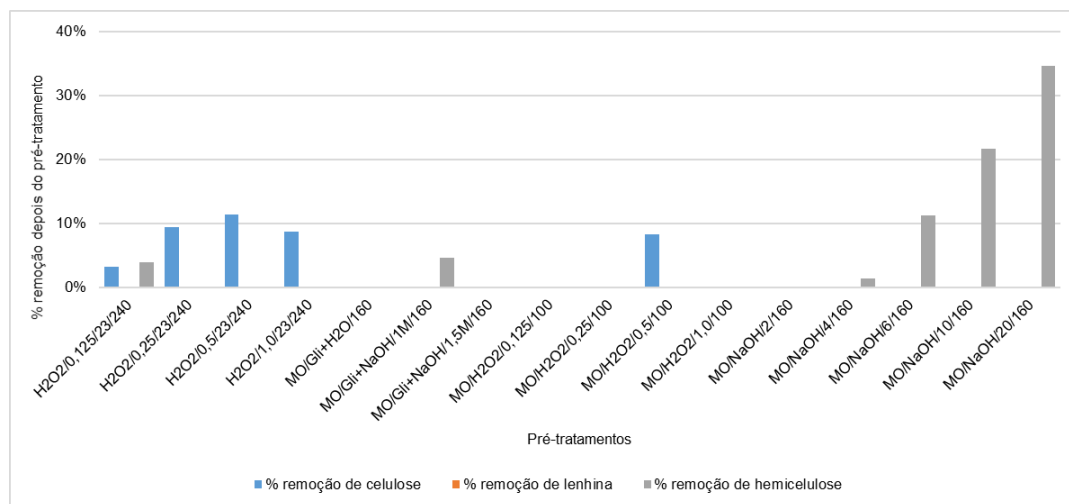


Figura 4.3 - Percentagem de remoção de celulose, lenhina e hemicelulose nos diferentes pré-tratamentos.

Estes resultados não estão de acordo com a literatura, uma vez que Cher et al. (2013) observaram mais de 80% de remoção de lenhina com o pré-tratamento de palha de milho, assistido por micro-ondas, com 10% (m/m) de NaOH, durante 75 min e a 95°C (Cher et al., 2013). Estes resultados podem indicar que o baixo tempo de reação (10 min) influenciou o processo de remoção de lenhina.

Também não foi detetada remoção de lenhina nos pré-tratamentos assistidos por micro-ondas, na presença de glicerol. Apenas se verificou uma baixa remoção de hemicelulose no pré-tratamento assistido por micro-ondas, na presença de glicerol e NaOH 1,0 M (4,6%). Estes resultados não estão de acordo com os obtidos por Diaz et al., (2015), uma vez que estes autores referem uma remoção de lenhina de 29,5% e 22,6% por imersão da palha de milho numa solução aquosa de glicerol (95% v/v glicerol), ou numa solução alcalina de glicerol (95% v/v glicerol – NaOH 1,4M), durante 2 min, sob a ação de uma potência de micro-ondas de 1300 W (Diaz et al., 2015). Contudo, as condições não são iguais às utilizadas na presente dissertação.

Os pré-tratamentos com H_2O_2 , com e sem micro-ondas, não removeram lenhina e apenas apresentaram uma baixa remoção de celulose, com um valor médio de 8,1% de remoção de celulose, à temperatura ambiente e 2,1% de remoção de celulose com micro-ondas. A maior percentagem de remoção de celulose ocorreu no pré-tratamento à temperatura ambiente, com uma razão H_2O_2/CM de

0,5 e pH 9,8, com 11,3% de remoção de celulose. Isto confirma os dados da literatura, em que muito pouca lenhina foi solubilizada com $\text{pH} < 11$ (Gould, 1984).

O pré-tratamento $\text{H}_2\text{O}_2/0,25/23/240$ apresentou uma percentagem de remoção de celulose de 7,0%, não havendo uma diferença significativa ($p < 0,05$) em relação à percentagem de remoção de celulose no pré-tratamento $\text{H}_2\text{O}_2/0,5/23/240$. No entanto, o pré-tratamento $\text{H}_2\text{O}_2/0,25/23/240$ apresentou uma menor concentração de açúcares (141 mg/L de glucose e 161 mg/L de frutose), em comparação com o pré-tratamento $\text{H}_2\text{O}_2/0,5/23/240$ (148 mg/L de glucose e 182 mg/L de frutose). A concentração de compostos inibidores na fração líquida foi mais elevada no pré-tratamento $\text{H}_2\text{O}_2/0,25/23/240$ (1,4 mg/L de ácido p-cumárico e 0,6 mg/L de ácido ferúlico) quando comparado com o pré-tratamento $\text{H}_2\text{O}_2/0,5/23/240$ (1,1 mg/L de ácido p-cumárico e 0,4 mg/L de ácido ferúlico)

A análise dos parâmetros de eficiência acima discutidos permite concluir que a melhor relação entre a solubilização de açúcares, a produção de inibidores e a remoção de lenhina, celulose e hemicelulose, ocorre à temperatura ambiente, com uma razão $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CM}$ de 0,5 e 2% ($m_{\text{CM}}/V_{\text{solução}}$) de CM, pH 9,8, durante 4h. Este pré-tratamento permitiu atingir (i) uma concentração de 148 mg/L de glucose e 182 mg/L de frutose, (ii) uma concentração de 1,1 mg/L de ácido p-cumárico e 0,4 mg/L de ácido ferúlico, e (iii) uma remoção de lenhina, celulose e hemicelulose de 0,0%, 11,3% e 0,0%, respetivamente.

4.3. Cargas aplicadas ao digestor anaeróbio

A Figura 4.4 apresenta as cargas volúmicas médias e os desvios-padrão de SV que foram aplicadas nos ensaios de digestão (hidrolisado de FORSU) e codigestão (hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado) anaeróbia.

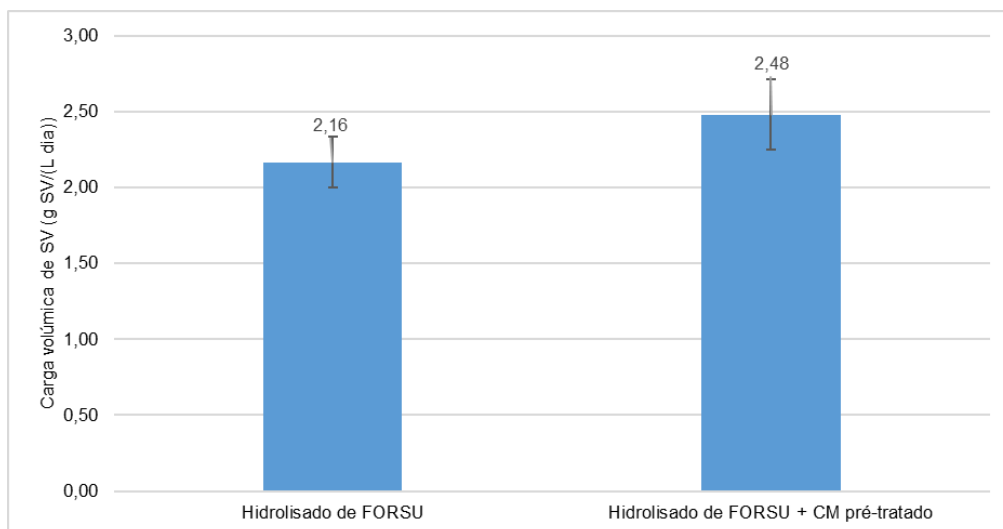


Figura 4.4 - Cargas volúmicas de SV aplicadas nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia.

O ensaio de digestão anaeróbia apresenta uma carga volúmica de 2,16 g SV/(L.dia), pois o objetivo era simular as condições de operação da ETVO. No ensaio de codigestão houve um aumento de 15% da carga de SV, correspondendo a 2,48 g SV/(L.dia). Um maior aumento da carga de SV podia

conduzir a uma elevada produção de AOV e, consequentemente, à inibição das bactérias metanogénicas. Para além disso, uma elevada carga de SV podia levar ao entupimento das tubagens do digestor.

4.4. Evolução dos parâmetros de controlo

O pH, a temperatura e o potencial redox foram os parâmetros de controlo monitorizados ao longo dos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia realizados. Desta forma, nas Figuras 4.5, 4.6 e 4.7 é possível observar a evolução do pH, da temperatura e do potencial redox em ambos os ensaios, respetivamente.

Relativamente ao pH, é possível concluir que no ensaio de digestão anaeróbia este varia entre $8,2 \pm 0,1$, com um valor médio de 8,3. Por sua vez, no ensaio de codigestão anaeróbia verificou-se uma maior variação do pH, devido à alimentação do digestor, atingindo valores de 7,9 e um valor médio de 8,1.

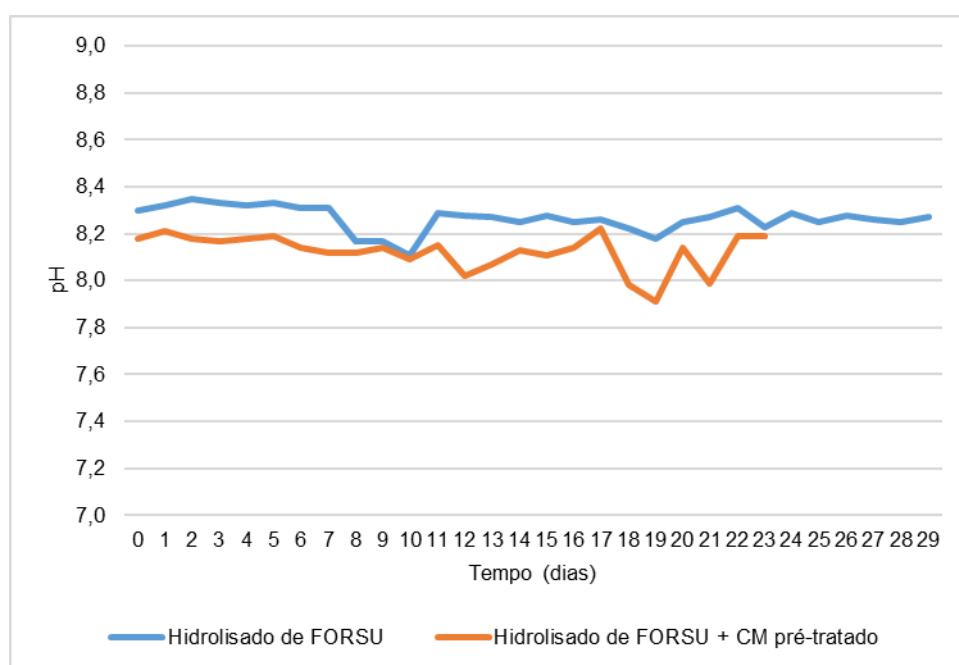


Figura 4.5 – Evolução do pH ao longo dos dois ensaios realizados.

No que diz respeito à temperatura, foi possível concluir que em ambos os ensaios a temperatura foi de $50 \pm 1^\circ\text{C}$, com um valor médio de $49,8^\circ\text{C}$ quer no ensaio de digestão anaeróbia de hidrolisado da FORSU, quer no ensaio de codigestão anaeróbia de hidrolisado da FORSU + CM pré-tratado.

O valor de temperatura mais baixo foi registado no ensaio de digestão anaeróbia com $49,4^\circ\text{C}$, enquanto que a temperatura mais baixa registada no ensaio de codigestão anaeróbia foi de $49,5^\circ\text{C}$.

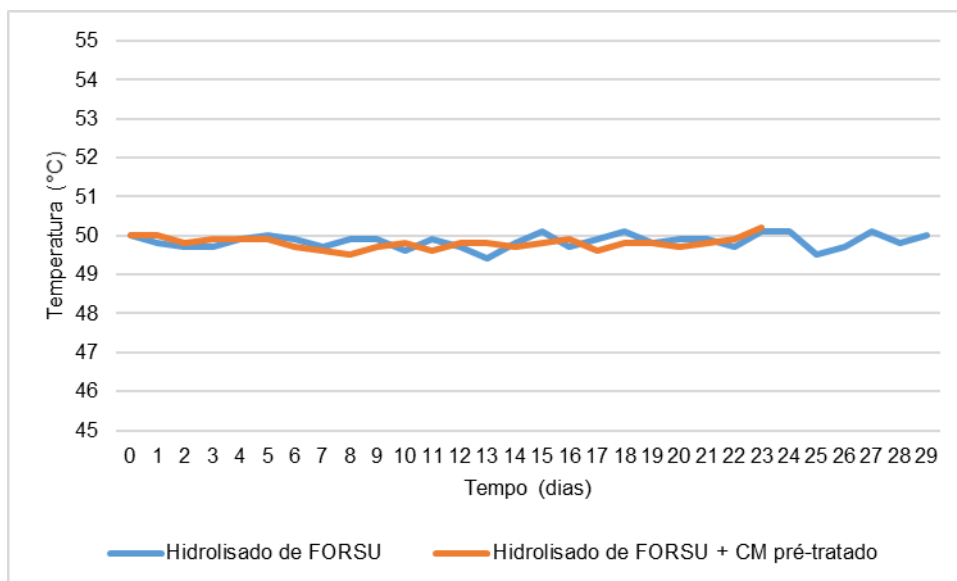


Figura 4.6 - Evolução da temperatura ao longo dos dois ensaios realizados.

Por fim, foi possível concluir que o potencial redox foi inferior no ensaio de codigestão anaeróbia, com, em média, -467 mV, em comparação com -398 mV no ensaio de digestão anaeróbia. No entanto, em ambos os ensaios o potencial redox é inferior a -250 mV, que é o valor máximo indicado para a DA.

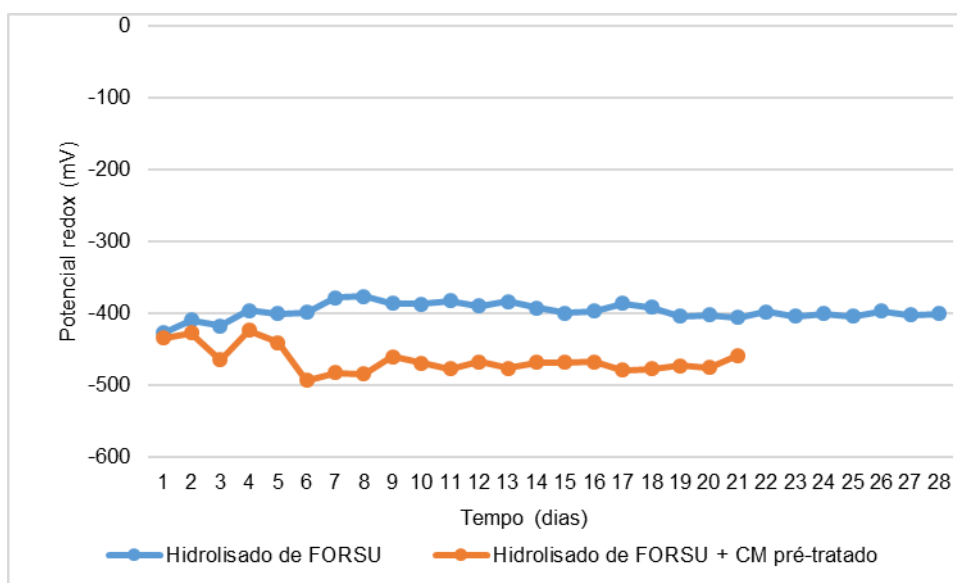


Figura 4.7 - Evolução do potencial redox ao longo dos dois ensaios realizados.

4.5. Caracterização dos afluentes e efluentes

A caracterização dos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio tem como finalidade a análise da eficiência do digestor, no decurso dos ensaios efetuados. Foi realizada uma comparação, por cada um dos parâmetros analisados, dos ensaios de digestão (hidrolisado de FORSU) e codigestão (hidrolisado de FORSU+CM pré-tratado). Todas as determinações foram feitas em triplicado.

4.5.1. Teores de ST e SV

Nas Figuras 4.8 e 4.9 apresentam-se os teores médios e os desvios-padrão obtidos para os ST e SV, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, relativamente aos ensaios de digestão e codigestão.

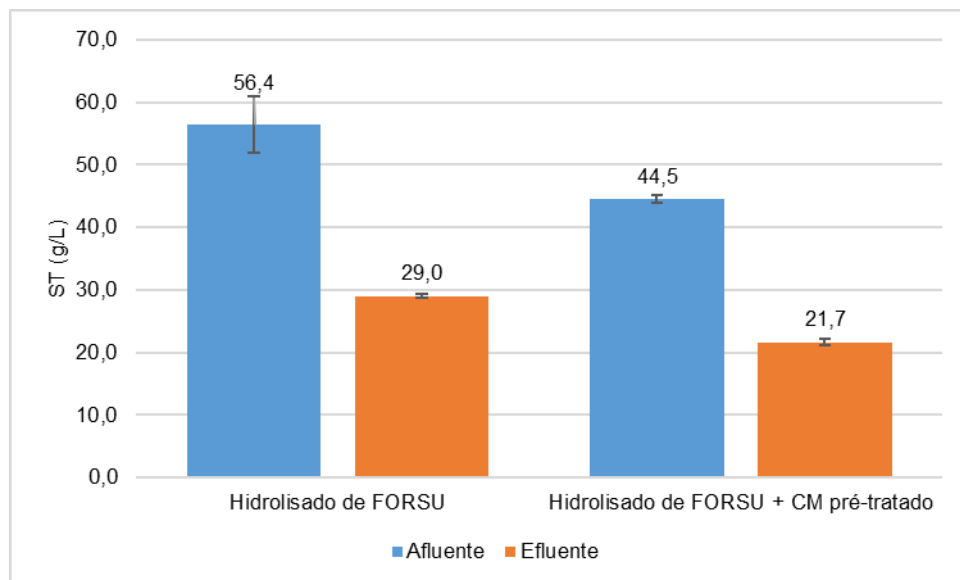


Figura 4.8 - Teores médios de ST, e desvios-padrão, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, nos ensaios de digestão e codigestão.

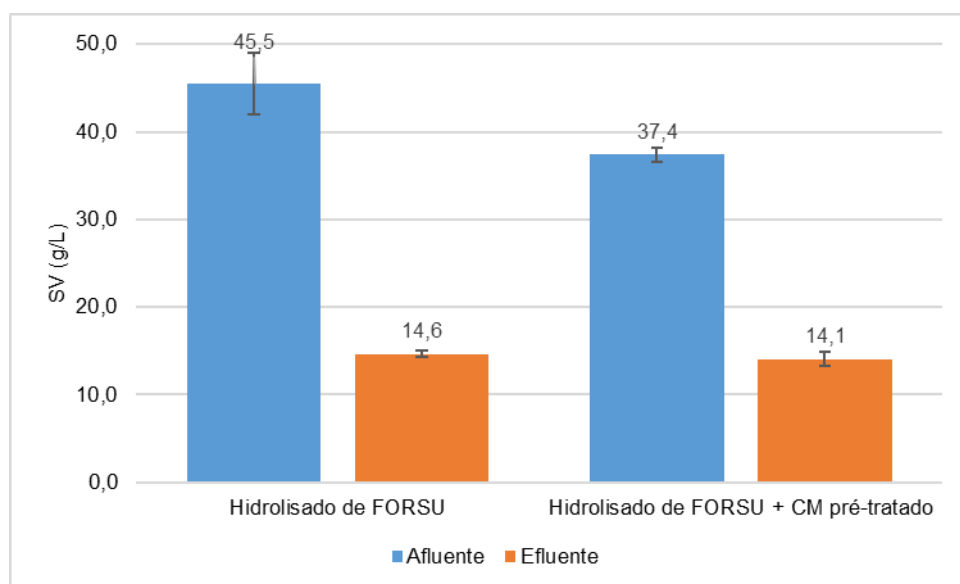


Figura 4.9 - Teores médios de SV, e desvios-padrão, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, nos ensaios de digestão e codigestão.

No ensaio de digestão anaeróbia os teores de ST e SV, no afluente, foram de 56,4 g ST/L e 45,5 g SV/L, respetivamente. Por sua vez, no ensaio de codigestão anaeróbia os teores de ST e SV, no afluente, foram de 44,5 g ST/L e 37,4 g SV/L. O menor teor de ST e SV no afluente de codigestão,

em comparação com o afluente de digestão anaeróbia, deve-se à diluição provocada pela adição da fração líquida e sólida, resultante do pré-tratamento do CM, ao hidrolisado de FORSU.

Na Figura 4.10 é possível observar-se as eficiências médias de remoção, e os respectivos desvios-padrão, de ST e SV, nos ensaios de digestão e codigestão realizados.

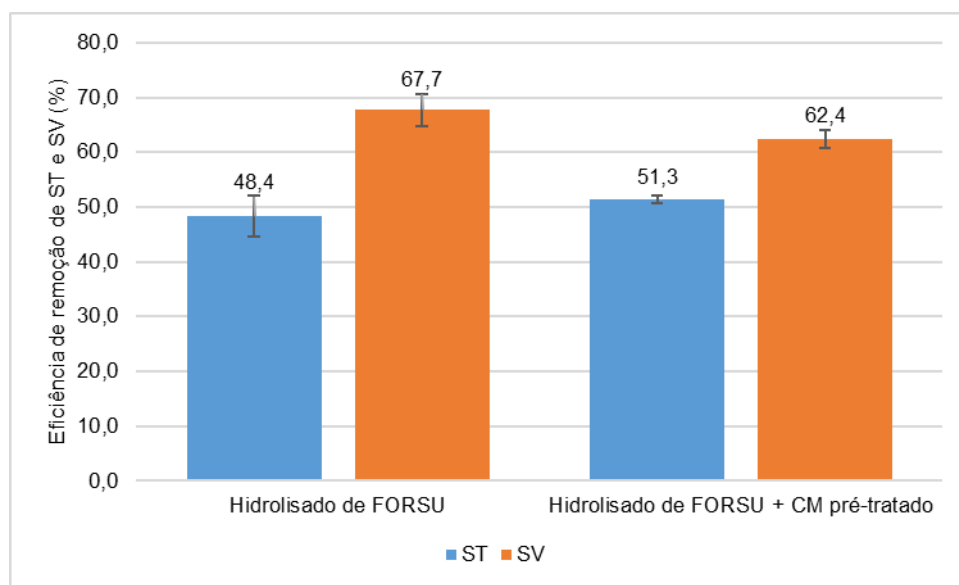


Figura 4.10 - Eficiências médias de remoção de ST e SV, e os respectivos desvios-padrão, nos ensaios de digestão e codigestão realizados.

A análise da Figura 4.10 permite concluir que existe uma eficiência de remoção de ST ligeiramente superior no ensaio de codigestão (48,4%) do que no ensaio de digestão anaeróbia (51,3%). Pelo contrário, no ensaio de digestão anaeróbia a eficiência de remoção de SV é superior, com 67,7%, do que no ensaio de codigestão, com 62,4%.

Segundo os valores apresentados por Beevi et al. 2008, observou-se uma remoção de 61,7% de ST, e de 66,7% de SV, durante a digestão da FORSU. Por sua vez, de acordo com Wei et al. 2015 a codigestão anaeróbia de estrume de bovino e palha de milho, em condições mesófilas, tendo sido a palha de milho pré-tratada com NaOH 2% (m/m), e misturada numa proporção de massa de 3:1, apresentou uma remoção de 54,24% de SV, que corresponde a um valor muito inferior à remoção de SV alcançada no presente trabalho, na codigestão de hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado.

4.5.2. CQOt e CQOs

Nas Figuras 4.11 e 4.12 apresentam-se os teores médios e os desvios-padrão de CQOt e CQOs, respetivamente, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, nos ensaios de digestão e codigestão.

O CQOt e o CQOs apresentam valores muito semelhantes nos afluentes dos dois digestores: 87,7 g O₂/L para o CQOt em ambos os ensaios e 34,7 e 32,7 g O₂/L para o CQOs do ensaio de digestão e de codigestão anaeróbia, respetivamente.

O efluente apresenta valores de CQOt de 17,4 e 34,2 g O₂/L no ensaio de digestão e de codigestão anaeróbia, respectivamente. Enquanto que o CQOs apresenta valores de 9,1 e 10,8 g O₂/L no efluente do ensaio de digestão e de codigestão anaeróbia, respectivamente.

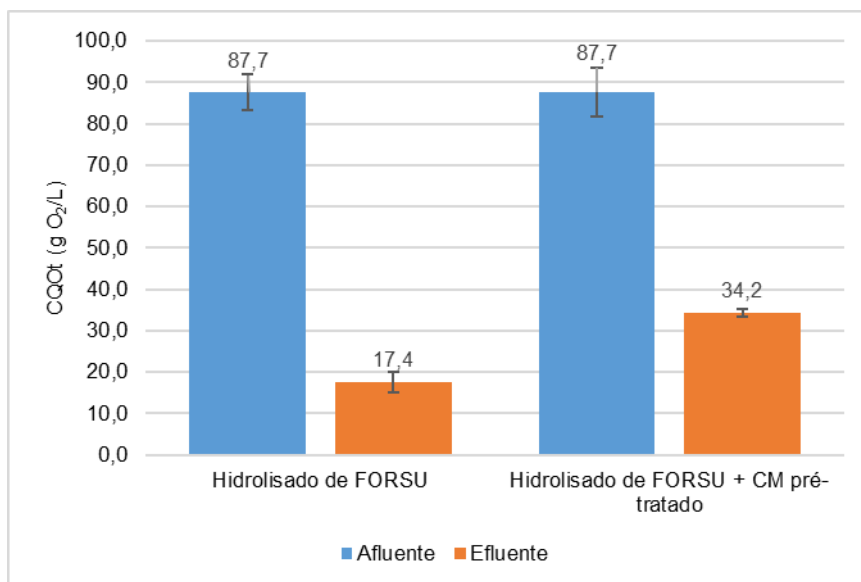


Figura 4.11 - Teores médios CQOt, e desvios-padrão, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, nos ensaios de digestão e codigestão.

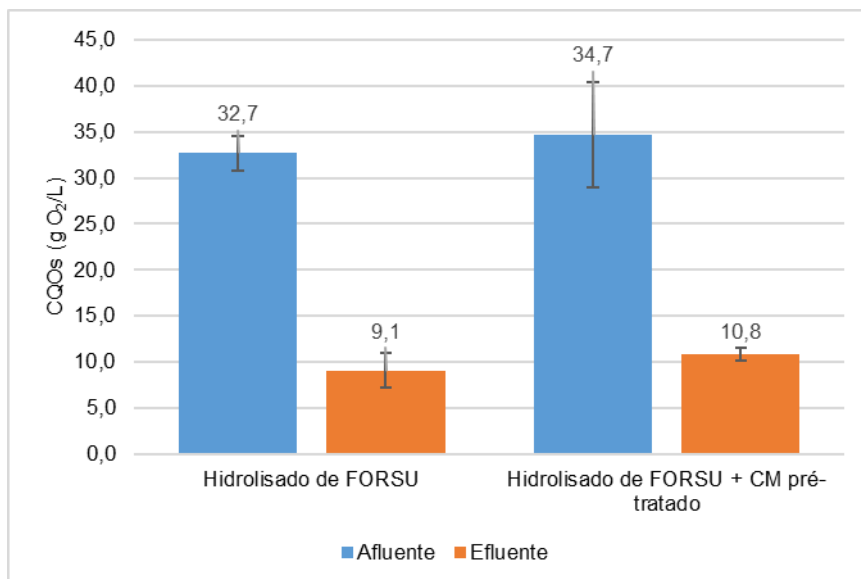


Figura 4.12 - Teores médios de CQOs, e desvios-padrão, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, nos ensaios de digestão e codigestão.

Na Figura 4.13 apresentam-se as eficiências médias de remoção e os desvios-padrão de CQOt e CQOs, nos ensaios de digestão e codigestão.

Pela análise da Figura 4.13 é possível concluir-se que o ensaio de digestão anaeróbia apresentou eficiências de remoção de CQOt e CQOs de 80,2% e 72,0%, respectivamente, sendo superiores às verificadas no ensaio de codigestão com eficiências de remoção de CQOt e CQOs de 60,9% e 66,7%, respectivamente.

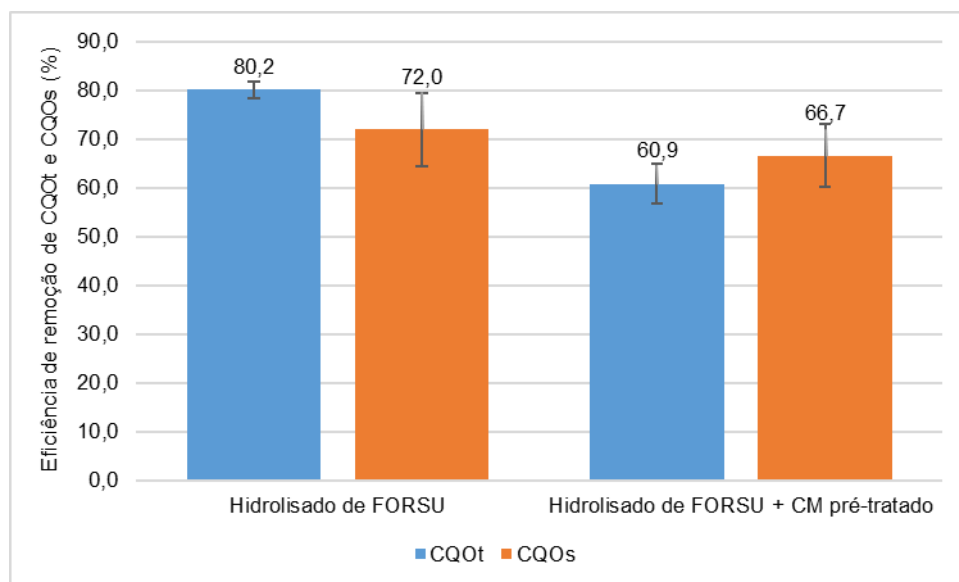


Figura 4.13 - Eficiências médias de remoção de CQOt e CQOs, e os respectivos desvios-padrão, nos ensaios de digestão e codigestão realizados.

Beevi et al. (2008) observaram uma remoção de 70,1% de CQOt, durante a digestão da FORSU, sendo ligeiramente inferior à obtida na presente dissertação. Por sua vez, não foram encontrados na bibliografia resultados de remoção de CQO para ensaios de codigestão, com condições semelhantes às estudadas na presente dissertação.

4.5.3. Teores de azoto

Na Tabela 4.7 apresentam-se os valores de N-Kjeldhal, N-NH₄ e N-orgânico obtidos nos afluentes e efluentes dos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia.

O afluente dos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia apresentam teores elevados de N-Kjeldahl, com concentrações de cerca de 2867 mg N/L e 3208 mg N/L, respectivamente. Por outro lado, verificam-se também valores elevados de N-Kjeldahl nos efluentes de ambos os ensaios, havendo uma remoção de 15% de N, no ensaio de digestão anaeróbia, e de 28% no ensaio de codigestão anaeróbia.

No ensaio de digestão anaeróbia, 47,7% do N-Kjeldahl corresponde a N-orgânico, sendo 52,6% deste consumido ao longo do processo pelas bactérias. Na codigestão anaeróbia, 55,8% do teor de N-Kjeldahl corresponde a N-orgânico, sendo consumido 66,8%.

Tabela 4.7 – Valores N-Kjeldahl, N-NH₄ e N-orgânico obtidos nos afluentes e efluentes do ensaio de digestão e codigestão anaeróbia.

Amostra	N-Kjeldhal (mg N/L)	N-NH ₄ (mg N/L)	N- orgânico (mg N/L)	NH ₄ (% N- Kjeldhal)	N-orgânico (% N-Kjeldahl)
Afluente (Hidrolisado de FORSU)	2867	1500	1367	52,3%	47,7%
Efluente (Hidrolisado de FORSU)	2433	2185	648	89,8%	26,6%
Afluente (Hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado)	3208	1416	1791	44,2%	55,8%
Efluente (Hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado)	2298	1704	594	74,1	25,9

De acordo com Yenigün & Demirel (2013), o processo de digestão anaeróbia é vulnerável à inibição por certas substâncias químicas, entre os quais se encontra o NH₄⁺. Estes autores indicam que uma concentração de NH₄ de 2500 mg N/L pode causar 100% de inibição na digestão anaeróbia de FORSU, em condições termófilas, com um valor de pH 7 e uma carga de sólidos de 6,5 g SV/(kg.dia). Por sua vez, segundo Hadj et al. (2009), uma concentração de NH₄ entre 3860 mg N/L e 5600 mg N/L pode reduzir a produção de CH₄ em 50%, na digestão anaeróbia de FORSU, em condições termófilas. Deste modo, analisando a Tabela 4.7, é possível concluir que as concentrações de NH₄ presentes nos afluentes (1500 mg N/L no ensaio de digestão e 1416 no ensaio de codigestão) foram inferiores às citadas por estes autores como sendo inibidoras da produção de CH₄.

4.5.4. Fósforo total

Na Figura 4.14 apresentam-se os teores médios e os desvios-padrão de fósforo total, nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbio, nos ensaios de digestão e codigestão realizados.

A quantidade de fósforo na DA deve manter-se constante ou sofrer uma diminuição, pois este nutriente pode ser utilizado pelos microrganismos envolvidos no processo (Deublein & Steinhauser, 2010).

No ensaio de digestão anaeróbia obteve-se uma concentração no afluente de 494 mg P/L, enquanto que no ensaio de codigestão anaeróbia a concentração de fósforo total foi menor (354 mg P/L), podendo ser devido à diluição do hidrolisado da FORSU provocada pela adição da fração líquida e da fração sólida, resultantes do pré-tratamento feito ao CM.

No ensaio de digestão anaeróbia obteve-se uma concentração no efluente de 297 mg P/L, enquanto que no ensaio de codigestão anaeróbia a concentração de fósforo total foi de 306 mg P/L.

Em todas as determinações de fósforo efetuadas, verificou-se um grande desvio-padrão, quer no afluente como no efluente. Isto pode dever-se à dificuldade de obtenção de amostras homogêneas tanto nos afluentes como nos efluentes.

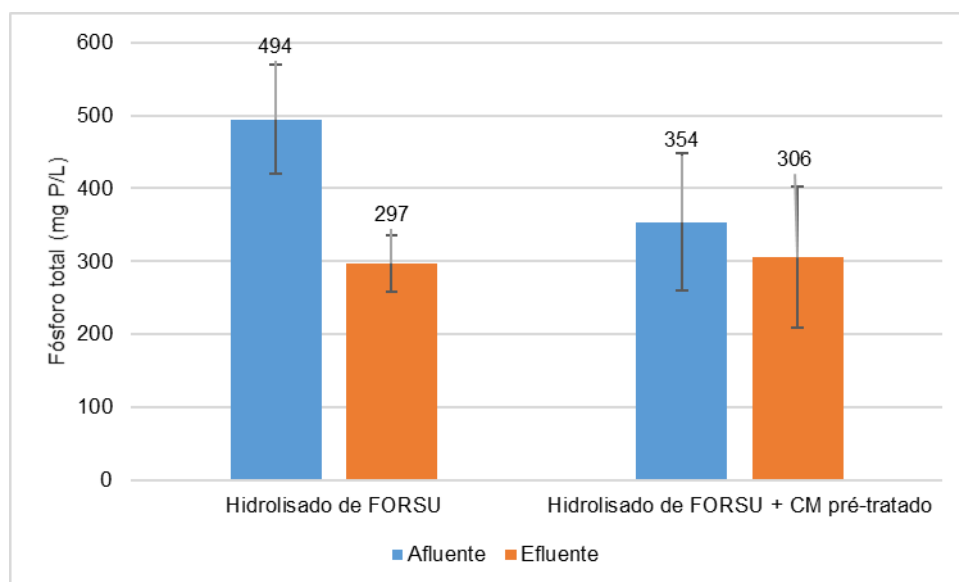


Figura 4.14 - Teores médios e desvios-padrão de fósforo nos afluentes e efluentes do digestor anaeróbico, nos ensaios de digestão e codigestão.

4.5.5. Análise elementar

Na Tabela 4.8 apresentam-se os resultados da análise elementar dos afluentes de digestão e codigestão anaeróbia, respetivamente. Pode concluir-se que na digestão anaeróbia do hidrolisado de FORSU existiu uma maior quantidade de N (0,40% m/v), em comparação com a codigestão anaeróbia de FORSU+CM (0,32% m/v). Deste modo, a razão C/N no primeiro ensaio é ligeiramente menor ($C/N \sim 9,5$), do que no ensaio de codigestão anaeróbia ($C/N = 9,7$). Sabendo que a razão C/N ótima para a DA está entre 20 e 30, ou entre 20 e 35, sendo 25 a razão mais usada (X. Wang et al., 2012), as razões utilizadas em ambos os ensaios situaram-se abaixo do intervalo ótimo.

Tabela 4.8 – Análise elementar do afluente de digestão anaeróbia.

Parâmetro	Valor (Hidrolisado de FORSU)	Valor (Hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado)
C (% m/v)	3,76±0,30	3,10±0,71
N (% m/v)	0,40±0,02	0,32±0,11
H (% m/v)	9,40±1,55	7,20±3,20
S (% m/v)	<0,01±0,00	0,05±0,06

As razões C:N:P dos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia foram de 76:6:1 e 88:9:1, respetivamente, sendo inferiores à razão C:N:P ótima para a produção de CH_4 que é 200:5:1 (Mao et al., 2015).

No primeiro ensaio não foi detetado qualquer teor de S na amostra, enquanto que no ensaio de codigestão foi detetado um baixo teor do elemento ($S=0,05\%$ m/v).

4.5.6. Concentração de AOV

A Figura 4.15 apresenta as concentrações de AOV, nomeadamente ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico e ácido butírico, presentes nos afluentes de digestão e codigestão anaeróbia. O ácido acético foi o que apresentou uma maior concentração no hidrolisado da FORSU (4000 mg/L), enquanto que no ensaio de codigestão anaeróbia foi o ácido butírico que apresentou uma maior concentração (2158 mg/L).

O ácido fórmico não foi detetado no afluente do ensaio de codigestão.

O ácido propiónico foi, dos ácidos detetados, aquele que apresentou a menor concentração nos afluentes de ambos ensaios, embora com valores bastantes diferentes entre si: no ensaio de digestão anaeróbia foi quantificada uma concentração de 1632 mg/L, e no ensaio de codigestão quantificou-se uma concentração de 399 mg/L.

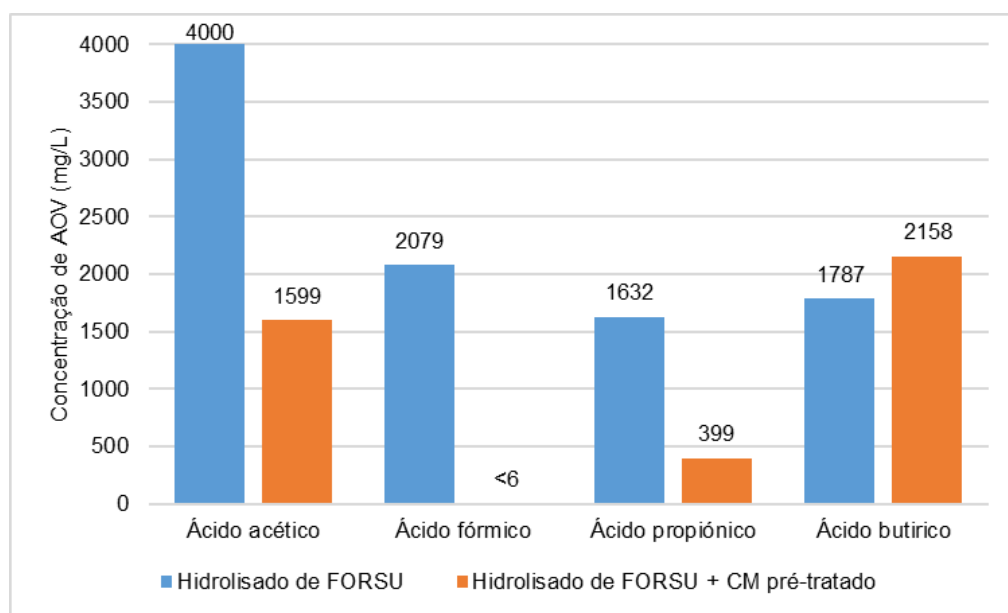


Figura 4.15 - Concentração de ácidos orgânicos voláteis nos afluentes de digestão e codigestão anaeróbia.

A diferença no perfil dos AOV entre os ensaios de digestão e codigestão anaeróbia pode estar associada a alterações nas condições de operação ou na composição do afluente do tanque de hidrólise da ETVO.

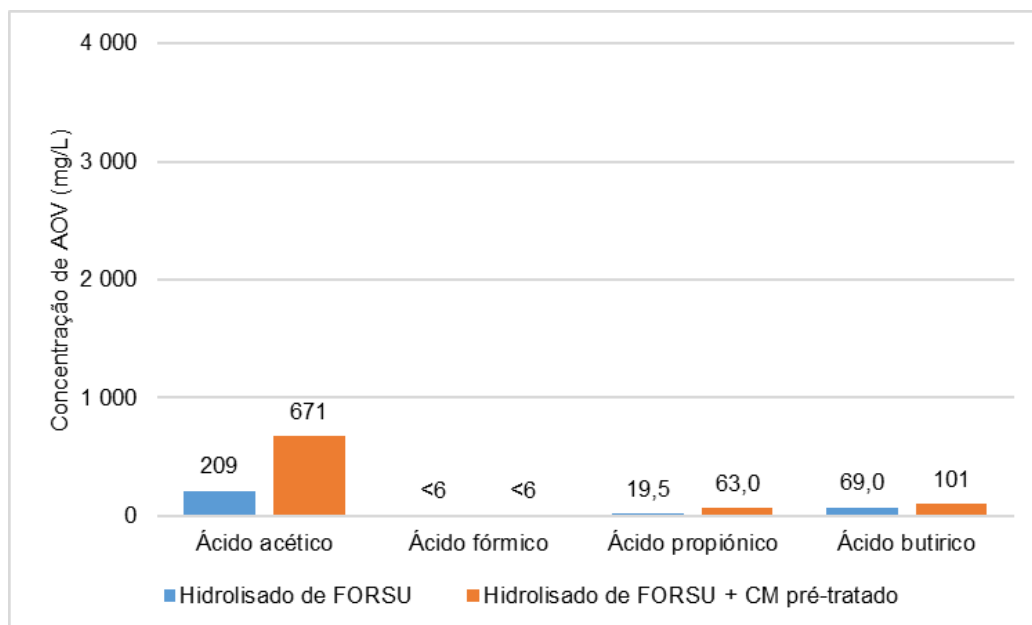


Figura 4.16 - Concentração de ácidos orgânicos voláteis nos efluentes de digestão e codigestão anaeróbia.

A Figura 4.16 apresenta as concentrações de AOV, nomeadamente ácido acético, ácido propiónico e ácido butírico, presentes nos efluentes do digestor anaeróbio, nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia.

Verificou-se em ambos os ensaios realizados uma redução, entre o afluente e o efluente, da concentração de AOV. No ensaio de digestão anaeróbia as percentagens de remoção de ácido acético, ácido fórmico, ácido propiónico e ácido butírico, entre o afluente e o efluente, foram, respetivamente, de 94,7%, ≈99,9%, 98,8% e 96,1%. No ensaio de codigestão anaeróbia a percentagem de remoção de ácido acético, ácido propiónico e ácido butírico, entre o afluente e o efluente, foram, respetivamente, 62,3%, 74,2% e 96,8%.

A concentração de AOV é um dos parâmetros mais comuns para se avaliar a estabilidade do processo de DA. Na Tabela 4.9, apresentam-se os limites de concentração dos ácidos acético, propiónico e butírico, para diferentes níveis de estabilidade da DA.

Comparando as concentrações obtidas nos efluentes de digestão e codigestão anaeróbia com os limites de concentração apresentados na Tabela 4.9, é possível concluir-se que os processos de digestão e codigestão apresentaram concentrações de AOV dentro das gamas de estabilidade, tendo sido apenas registadas concentrações de ácido butírico, para ambos os ensaios de digestão anaeróbia, acima do limite de estabilidade.

No que concerne à razão ácido acético/ácido propiónico, em ambos os ensaios de digestão e codigestão anaeróbia foi determinada uma razão de 11, o que reforça a ideia de que se trataram de processos de digestão anaeróbia desenvolvidos em condições de estabilidade do consórcio de bactérias.

Tabela 4.9 – Limites de concentração de AOV para diferentes níveis de estabilidade da DA (Drosg, 2013).

AOV	Intervalo de concentração	Interpretação
Ácido acético	<1000 mg/L	Processo estável
	1000 – 4000 mg/L	Início de instabilidade
	>4000 mg/L	Elevada probabilidade instabilidade
Ácido propiónico	<250 mg/L	Processo estável
	250 - 1000 mg/L	Início de instabilidade
	>1000 mg/L	Elevada probabilidade instabilidade
Ácido butírico	<50 mg/L	Processo estável
	>50 mg/L	Se existir acumulação deste AOV, podem ocorrer problemas graves de instabilidade
Razão ácido acético/ácido propiónico	>2	Processo estável
	1 – 2	Início de instabilidade
	<1	Elevada probabilidade instabilidade

4.5.7. Análise quantitativa e qualitativa do biogás

O registo dos volumes de biogás, em cada um dos ensaios, iniciou-se após a estabilização do digestor e teve as durações de 29 dias para o ensaio com hidrolisado de FORSU e 23 dias para o ensaio com hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado. Considerou-se que o digestor anaeróbio atingiu condições estáveis de funcionamento quando a produção de biogás era aproximadamente constante em 5 dias consecutivos. A estabilidade do digestor foi registada, para ambos os ensaios, ao fim de cerca de 1,5 vezes o TRH de cada ensaio.

A Figura 4.17 apresenta a volume de biogás acumulado nas condições de Pressão e Temperatura Ambiente Normais (PTAN) (25°C e 1 atm), em ambos os ensaios realizados. O ensaio de codigestão anaeróbia foi o que produziu um maior volume acumulado de biogás, com 89191 cm³ em 23 dias, representando um aumento de cerca de 39% face ao volume de biogás acumulado, para o mesmo período de tempo, no ensaio de digestão anaeróbia (54712 cm³).

Em 29 dias, o ensaio de digestão anaeróbia produziu um volume acumulado de 69129 cm³.

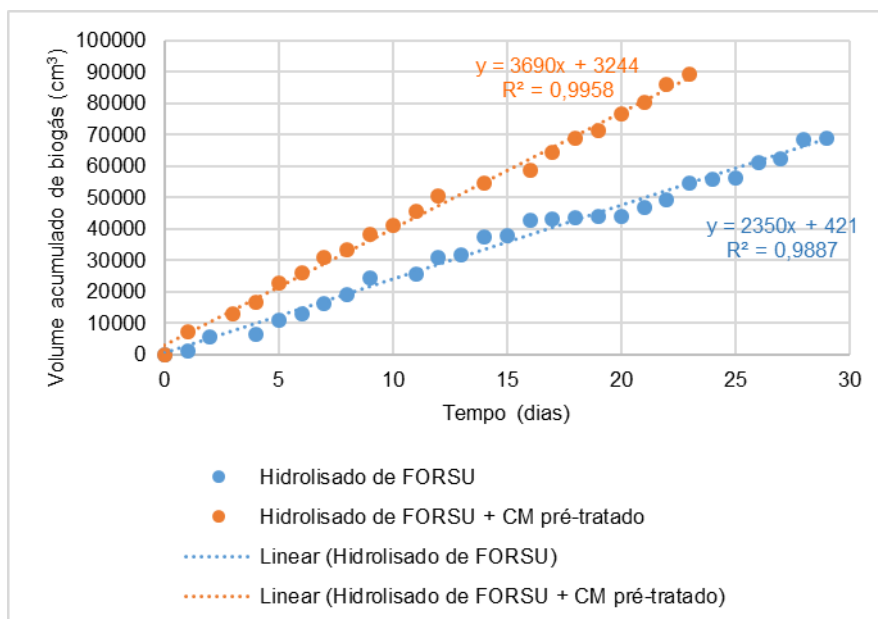


Figura 4.17 – Volumes acumulados de biogás obtidos nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia, nas condições PTAN.

Na Figura 4.18 está apresentando o volume de biogás acumulado nas condições de Pressão e Temperatura Normais (PTN) (0°C e 1 atm), em ambos os ensaios realizados. O ensaio de codigestão anaeróbia foi o que produziu um maior volume acumulado de biogás, com 81709 cm³ em 23 dias, representando um aumento de cerca de 39% face ao volume de biogás acumulado, para o mesmo período de tempo, no ensaio de digestão anaeróbia (50122 cm³).

Em 29 dias, o ensaio de digestão anaeróbia produziu um volume acumulado de 63329 cm³.

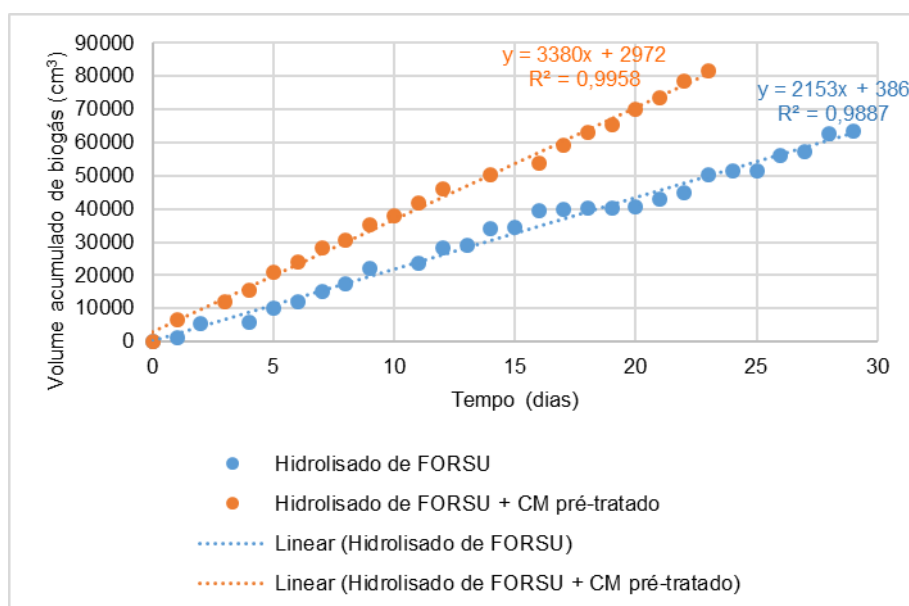


Figura 4.18 - Volumes acumulados de biogás obtidos nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia, nas condições PTN.

Na Figura 4.19 apresentam-se as percentagens médias de CH₄, CO₂ e H₂S no biogás e os respectivos desvios-padrão, obtidas nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia.

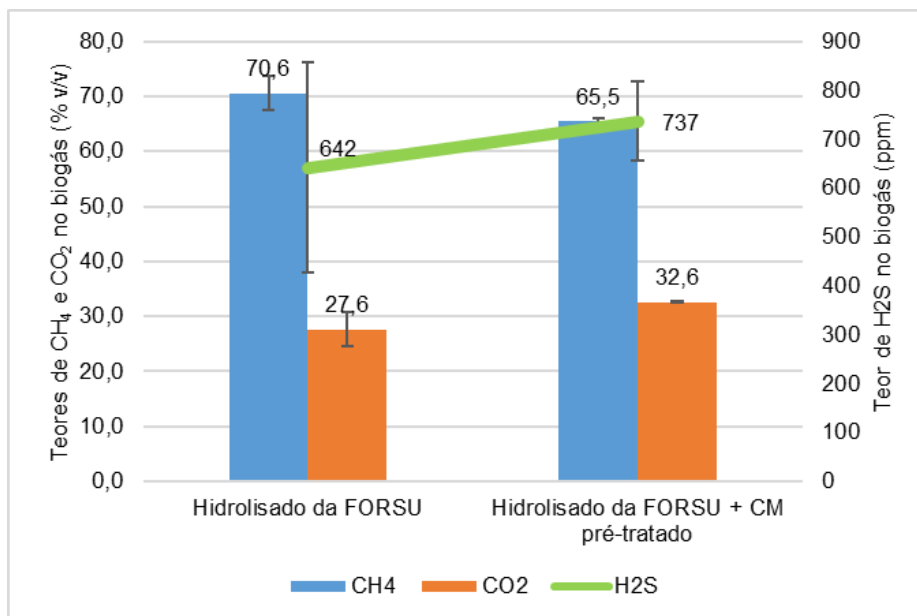


Figura 4.19 – Percentagens médias de CH₄, CO₂ e H₂S no biogás, e respectivos desvios-padrão, obtidas nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia.

O ensaio de digestão anaeróbia apresentou teores mais elevados de CH₄ e menores teores de CO₂, com valores de 70,6% (v/v) e 27,6% (v/v), respetivamente. Os teores de H₂S não apresentaram diferenças significativas entre si, uma vez que o desvio-padrão da concentração deste gás, no ensaio de digestão de hidrolisado de FORSU, foi relativamente acentuado.

Num estudo sobre a codigestão de estrume de galinha com palha de milho, a 37°C, o qual foi realizado com uma carga de 3 g SV/(L.dia), obteve-se um teor de 49,8±0,7% (v/v) de CH₄ no biogás (Li et al., 2014). Este teor foi significativamente inferior ao teor de CH₄ obtido no ensaio de codigestão de hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado (65,5% v/v).

4.5.8. Rendimento de produção de biogás e CH₄ relativamente à carga de SV

A Figura 4.20 apresenta os rendimentos de produção de biogás e CH₄ relativamente à carga de SV aplicada nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia, nas condições PTAN.

O rendimento de produção de biogás foi mais elevado no ensaio de codigestão anaeróbia, com 734 L biogás/kg SV_{aplicados} no digestor, em comparação com 525 L biogás/kg SV_{aplicados} no digestor obtido no ensaio de digestão anaeróbia. Por sua vez, o rendimento de produção de CH₄ também foi mais elevado no ensaio de codigestão anaeróbia, com 481 L CH₄/kg SV_{aplicados} no digestor, em comparação com 370 L CH₄/kg SV_{aplicados} no digestor obtidos no ensaio de digestão anaeróbia.

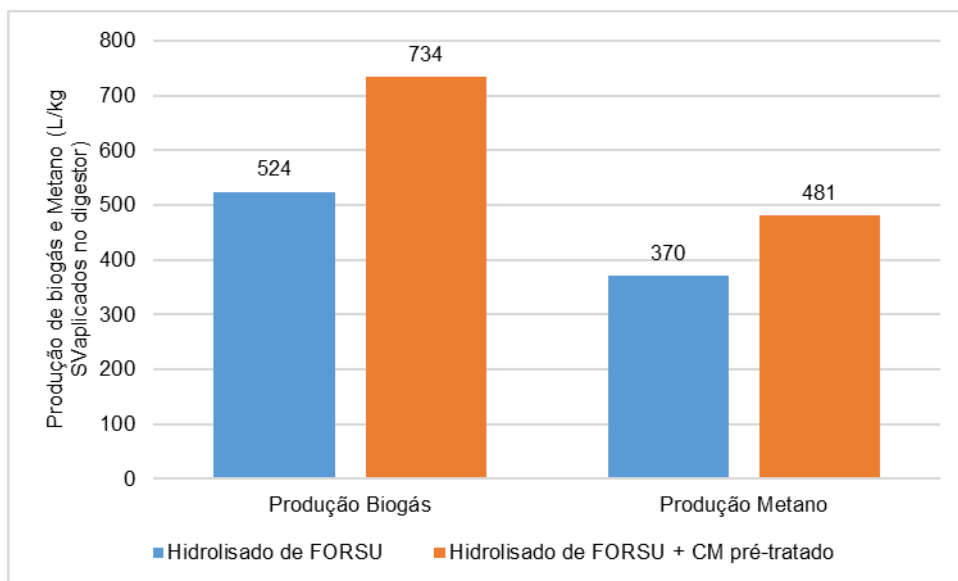


Figura 4.20 – Rendimentos de produção de biogás e CH₄ relativamente à carga de SV aplicada, nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia, nas condições PTAN.

Assim, o ensaio de codigestão anaeróbia conduziu a um aumento de 29% do rendimento em biogás e a um aumento de 23% do rendimento em CH₄. Deste modo, a codigestão anaeróbia do hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado conduziu a um aumento significativo da produção de biogás e CH₄, em comparação com os resultados obtidos no ensaio de digestão anaeróbia com o hidrolisado de FORSU.

A Figura 4.21 apresenta os rendimentos de produção de biogás e CH₄ relativamente à carga de SV aplicada nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia, nas condições PTN.

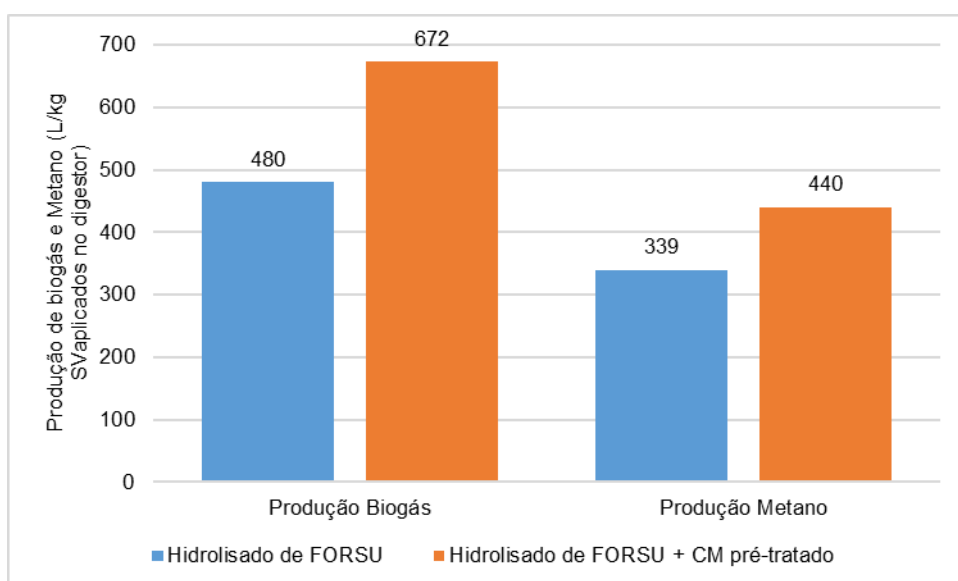


Figura 4.21 - Rendimentos de produção de biogás e CH₄ relativamente à carga de SV aplicada, nos ensaios de digestão e codigestão anaeróbia, nas condições PTN.

Assim, nas condições TPN, o rendimento de produção de biogás no ensaio de codigestão anaeróbia foi de 672 L biogás/kg SV_{aplicados no digestor}, em comparação com 480 L biogás/kg SV_{aplicados no digestor} obtidos no ensaio de digestão anaeróbia. Por sua vez, também nas condições TPN, o rendimento de produção de CH₄ no ensaio de codigestão anaeróbia foi de 440 L CH₄/kg SV_{aplicados no digestor}, em comparação com 339 L CH₄/kg SV_{aplicados no digestor} obtidos no ensaio de digestão anaeróbia.

A Tabela 4.10 compara os resultados obtidos por diferentes autores relativamente aos rendimentos de produção de biogás e CH₄. Os trabalhos identificados na literatura não indicam as condições relativamente às quais os rendimentos de produção de biogás e de CH₄ foram calculados, pelo que se optou por comparar os mesmos com os valores dos rendimentos nas condições PTAN.

De acordo com Owamah & Izinyon (2015), a codigestão de resíduos alimentares com casca de milho, com uma carga de SV de 2,5 g SV/(L.dia) e um regime mesófilo, apresentou rendimentos de produção de biogás e de CH₄, respetivamente, de 640 L biogás/kg SV e 408 L CH₄/kg SV. Estes autores apenas submeteram a casca de milho a moagem até ficarem na forma de pó. A produção de biogás e de CH₄ obtidas por estes autores são, respetivamente, 13% e 15% inferiores às obtidas na codigestão anaeróbia de FORSU+CM estudada na presente dissertação. A carga de SV utilizada no presente trabalho foi semelhante à que foi usada por aqueles autores, embora o regime de temperatura, o o tempo de acumulação de biogás e a razão C/N tenham sido diferentes.

Li et al. (2014) estudaram a codigestão de estrume de galinha e palha de milho, em regime mesófilo. Assim, com cargas de SV de 2 g SV/(L dia) e 3 g SV/(L dia), estes autores obtiveram um rendimento de produção de biogás de 411±4 L biogás/kg SV e 422±9 L biogás/kg SV, respetivamente, representando uma diferença de 44% e 43%, respetivamente, em relação à produção de biogás do hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado, obtida na presente dissertação. Por sua vez, a produção de biogás foi de 209±6 L CH₄/kg SV e 210±6 L CH₄/kg SV, sendo inferior em cerca de 56%, em comparação com a produção de CH₄ obtida a partir da codigestão anaeróbia de hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado.

Kalamaras & Kotsopoulos (2014) estudaram a codigestão de ensilagem de milho e estrume de bovino, em regime mesófilo, obtendo um rendimento de produção de CH₄ de 267 L CH₄/kg SV, o qual é inferior em 44% relativamente à produção de CH₄ obtida a partir da codigestão anaeróbia de hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado.

É importante referir que embora os rendimentos de biogás e CH₄ obtidos no presente trabalho tenham sido mais elevados, em comparação os resultados obtidos nos trabalhos apresentados na Tabela 4.10, pode dever-se ao regime de temperatura utilizado (termófilo) e ao pré-tratamento do CM. A codigestão de hidrolisado da FORSU com CM pré-tratado, numa razão H₂O₂/CM de 0,5 e 2% de CM m_{CM}/V_{solução}, pH 9,8, num período 4h, à temperatura ambiente, apresenta-se como uma alternativa interessante para a valorização biológica do resíduo de CM, para a produção de biogás.

Tabela 4.10 – Rendimentos de produção de biogás e CH₄ relativamente à carga de SV aplicada, obtidos em diferentes trabalhos de codigestão anaeróbia com resíduos de milho.

Matérias-primas	Condições de operação	Rendimento em biogás (L biogás/kg SV aplicados)	Rendimento em CH ₄ (L CH ₄ /kg SV aplicados)	Referência bibliográfica
75% de resíduos alimentares e 25% de casca de milho	Carga de SV = 2,5 g SV/(L.dia) T= 37±1°C pH 6,8 C/N = 23,4 Tempo de acumulação de biogás: 44 dias	640	408	(Owamah & Izinyon, 2015)
Estrume de galinha e palha de milho misturados numa razão 1:1,4	Carga de SV = 3 g SV/(L.dia) T= 37±1°C C/N = 20 Tempo de acumulação de biogás: 19 dias	422±9	210±6	(Li et al., 2014)
40% de ensilagem de milho e 60% de estrume de bovino	T= 37±1°C Tempo de acumulação de biogás: 15 dias	-	267	(Kalamaras & Kotsopoulos, 2014)
Hidrolisado de FORSU e CM pré-tratado	Carga de SV = 2,48 g SV/(L.dia) T= 50±1°C C/N = 9,7 Tempo de acumulação de biogás: 23 dias	734	481	Presente trabalho

5. CONCLUSÃO

A caracterização do hidrolisado da FORSU permitiu concluir que este apresenta baixos teores de sólidos (5,6% m/m de ST e 4,5% m/m de SV) e elevados teores de CQOt (87,7 g O₂/L). Por sua vez, a caracterização do CM também permitiu concluir que este apresenta teores elevados de sólidos (91,2% m/m de ST e 89,6% m/m de SV).

Relativamente aos pré-tratamentos realizados ao CM, foi possível concluir que nenhum removeu lenhina. A maior percentagem de remoção de hemicelulose ocorreu no pré-tratamento MO/NaOH/20/160 (34,7%). A maior percentagem de remoção de celulose ocorreu no pré-tratamento H₂O₂/0,5/23/240 (11,3%).

A concentração de compostos fenólicos foi mais elevada nos pré-tratamentos assistidos por micro-ondas na presença de NaOH, com valores médios de 108 mg/L de ácido p-cumárico, 54 mg/L de ácido ferúlico, 0,6 mg/L de ácido cafeíco e 5 mg/L de ácido vanílico. Por sua vez, os pré-tratamentos realizados com H₂O₂ à temperatura ambiente foram os que apresentaram menores concentrações de compostos fenólicos, com valores médios de 1,4 mg/L de ácido p-cumárico e 0,7 mg/L de ácido ferúlico.

A concentração de açúcares foi mais baixa nos pré-tratamentos assistidos por micro-ondas na presença de NaOH, com concentrações médias de 1,4 mg/L de glucose e 5,7 mg/L de frutose. Por outro lado, os pré-tratamentos com H₂O₂, quer assistidos por micro-ondas, quer à temperatura ambiente, foram os que apresentaram maior solubilização de açúcares. Assim, os pré-tratamentos com H₂O₂ à temperatura ambiente apresentaram valores médios de 144 mg/L de glucose e 173 mg/L de frutose, enquanto que os pré-tratamentos com H₂O₂, assistidos por micro-ondas, apresentaram valores médios de 141 mg/L de glucose e 184 mg/L de frutose.

A análise destes parâmetros permitiu concluir que a melhor relação entre a solubilização de açúcares, a produção de inibidores e a remoção de lenhina, celulose e hemicelulose, ocorreu à temperatura ambiente, com uma razão H₂O₂/CM de 0,5 e 2% ($m_{CM}/V_{solução}$) de CM, com um pH 9,8, durante 4h. Este pré-tratamento permitiu atingir (i) uma concentração de 148 mg/L de glucose e 182 mg/L de frutose, (ii) uma concentração de 1,1 mg/L de ácido p-cumárico e 0,4 mg/L de ácido ferúlico, e (iii) uma remoção de celulose de 11,3%, não se verificando remoção de lenhina, nem de hemicelulose.

O volume de biogás acumulado nos ensaios realizados, nas condições PTAN, após 23 dias, foi de 54712 cm³ no ensaio de digestão anaeróbia de hidrolisado de FORSU, enquanto que, durante o mesmo período, no ensaio de codigestão anaeróbia de hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado, o volume foi de 89191 cm³, representando um aumento de 39%. No entanto, no ensaio de digestão anaeróbia do hidrolisado de FORSU, o teor de CH₄ foi mais elevado (70,6% v/v) do que no ensaio de codigestão de hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado (65,5% v/v).

Nas condições PTAN, o rendimento de produção de biogás foi mais elevado no ensaio de codigestão anaeróbia de hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado, com 734 L biogás/kg SV_{aplicados} no digestor, em

comparação com 525 L biogás/kg SV_{aplicados} no digestor obtidos no ensaio de digestão anaeróbia de hidrolisado de FORSU. O rendimento de produção de CH₄ foi mais elevado no ensaio de codigestão anaeróbia, com 481 L CH₄/kg SV_{aplicados} no digestor, em comparação com 370 L CH₄/kg SV_{aplicados} no digestor obtidos no ensaio de digestão anaeróbia.

De modo geral, a codigestão do hidrolisado da FORSU + CM pré-tratado com uma razão H₂O₂/CM de 0,5 e 2% (m_{CM}/V_{solução}) de CM, pH 9,8, durante 4h, à temperatura ambiente, conduziu a um aumento de 29% do rendimento de produção de biogás e a um aumento de 23% do rendimento de produção de CH₄, em comparação com a digestão anaeróbia do hidrolisado da FORSU.

Em suma, o pré-tratamento do CM e a sua codigestão anaeróbia com hidrolisado de FORSU parecem ser tecnologias interessantes para serem estudadas como vias de valorização biológica do CM, para a produção de biogás.

6. SUGESTÕES DE TRABALHO FUTURO

Após a realização da presente dissertação e análise dos resultados obtidos, identificam-se dois tópicos principais que ficam aqui transcritos como sugestões para trabalhos futuros:

- Otimização do pré-tratamento efetuado ao CM, de modo a melhorar a eficiência da codigestão anaeróbia. A otimização pode ser feita através do aumento do tempo de pré-tratamento, bem como do aumento do teor de CM em solução;
- Análise do conteúdo energético do biogás produzido em ambos os ensaios realizados;
- Avaliação económica da codigestão anaeróbia de hidrolisado de FORSU + CM pré-tratado.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbasi, T., Tauseef, S. M., & Abbasi, S. A. (2012). Anaerobic digestion for global warming control and energy generation - An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(5), 3228–3242. <http://doi.org/10.1016/j.rser.2012.02.046>
- Appels, L., Baeyens, J., Degreè, J., & Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(6), 755–781. <http://doi.org/10.1016/j.pecs.2008.06.002>
- Ariunbaatar, J., Panico, A., Esposito, G., Pirozzi, F., & Lens, P. N. L. (2014). Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste. *Applied Energy*, 123, 143–156. <http://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.02.035>
- Banerjee, G., Car, S., Scott-craig, J. S., Hodge, D. B., & Walton, J. D. (2011). Alkaline peroxide pretreatment of corn stover : effects of biomass , peroxide , and enzyme loading and composition on yields of glucose and xylose, 1–15.
- Bayr, S., Kaparaju, P., & Rintala, J. (2013). Screening pretreatment methods to enhance thermophilic anaerobic digestion of pulp and paper mill wastewater treatment secondary sludge. *Chemical Engineering Journal*, 223, 479–486. <http://doi.org/10.1016/j.cej.2013.02.119>
- Beevi, B. S., Madhu, G., & Kumar, D. (2008). Performance and kinetic study of semi-dry thermophilic anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste, 36(2015), 93–97.
- Boonsombuti, A., & Luengnaruemitchai, A. (2013). Enhancement of enzymatic hydrolysis of corncob by microwave-assisted alkali pretreatment and its effect in morphology, 1957–1966. <http://doi.org/10.1007/s10570-013-9958-7>
- Budzianowski, W. M. (2012). Sustainable biogas energy in Poland: Prospects and challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(1), 342–349. <http://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.161>
- Campuzano, R., & González-Martínez, S. (2016). Characteristics of the organic fraction of municipal solid waste and methane production: A review. *Waste Management*, 54, 3–12. <http://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.05.016>
- Carrere, H., Antonopoulou, G., Affes, R., Passos, F., Battimelli, A., Lyberatos, G., & Ferrer, I. (2016). Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion: From lab-scale research to full-scale application. *Bioresource Technology*, 199, 386–397. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.007>
- Cher, Y., Stevens, M., Holmes, J., & Xu, H. (2013). Understanding the alkaline pretreatments parameters of corn stover enzymatic saccharification. *Biotechnology Biofuels*, 6(1), 8.
- Chutrong, J. (2015). Comparison of Corncob and Corn Using as Fungal Culture Medium. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 197(February), 797–800. <http://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.07.186>
- Decreto-Lei n.º 225/2007, de 31 de maio. Diário da República, 1ª série - N.º 105.
- Decreto-Lei n.º 231/2012, de 26 de outubro. Diário da República, 1ª série - N.º 208.
- DGEG (2015). Renováveis - Estatísticas rápidas n.º 132. Direção Geral de Energia e Geologia.
- Deublein, D., & Steinhauser, A. (2010). *Biogas from Waste and Renewable Resources: An Introduction, Second Edition*. *Biogas from Waste and Renewable Resources: An Introduction, Second Edition*. <http://doi.org/10.1002/9783527632794>
- Diaz, A. B., Moretti, M. M. de S., Bezerra-Bussoli, C., Carreira Nunes, C. da C., Blandino, A., da Silva, R., & Gomes, E. (2015). Evaluation of microwave-assisted pretreatment of lignocellulosic biomass immersed in alkaline glycerol for fermentable sugars production. *Bioresource Technology*, 185, 316–323. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.112>
- Drosg, B. (2013). *Process monitoring in biogas plants*. Retrieved from http://www.iea-biogas.net/files/daten-redaktion/download/Technical_Brochures/Technical_Brochure_process_monitoring.pdf
- Elsamadony, M., Tawfik, A., & Suzuki, M. (2015). Surfactant-enhanced biohydrogen production from organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) via dry anaerobic digestion. *Applied Energy*, 149, 272–282. <http://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.03.127>
- EUROSERVER (2016). <http://www.euroserv-er.org/>, acedido em Março de 2016.
- FAOSTAT (2016). Food and agriculture organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org/> acedido em Junho de 2016.
- Ferreira, M., Marques, I. P., & Malico, I. (2012). Biogas in Portugal: Status and public policies in a European context. *Energy Policy*, 43, 267–274. <http://doi.org/10.1016/j.enpol.2012.01.003>
- Franco Neto, I. F. (2011). Estudo dos processos de nitrificação e desnitrificação numa Estação de Tratamento de Águas Residuais, 152.

- Goering, H. K., & Van Soest, P. J. (1970). Forage fiber analysis. *Agriculture Handbook*, (379), 1–19.
- Gould, J. M. (1984). Studies on the Mechanism of Alkaline Peroxide Delignification of Agricultural Residues for Official Use.
- Gu, H., Zhang, J., & Bao, J. (2014). Inhibitor analysis and adaptive evolution of *Saccharomyces cerevisiae* for simultaneous saccharification and ethanol fermentation from industrial waste corncob residues. *Bioresource Technology*, 157, 6–13. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.060>
- Hadj, B. E., Astals, S., Galí, A., Mace, S., & Mata-Álvarez, J. (2009). Ammonia influence in anaerobic digestion of OFMSW. *Water Science and Technology*, 59(6), 1153–1158. <http://doi.org/10.2166/wst.2009.100>
- Jeschke, M., & Heggenstaller, A. (2012). Sustainable Corn Stover Harvest for Biofuel Production. *Pioneer Agronomy Sciences* ®, TM, SM Trademarks and Service Marks of Pioneer Hi-Bred. © 2012, PHIL, 22(5), 2. Retrieved from https://www.pioneer.com/CMRoot/Pioneer/US/Non_Searchable/agronomy/cropfocus_pdf/corn_stover_harvest.pdf
- Kalamaras, S. D., & Kotsopoulos, T. A. (2014). Anaerobic co-digestion of cattle manure and alternative crops for the substitution of maize in South Europe. *Bioresource Technology*, 172, 68–75. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.005>
- Karagöz, P., Rocha, I. V., Özkan, M., & Angelidaki, I. (2012). Alkaline peroxide pretreatment of rapeseed straw for enhancing bioethanol production by Same Vessel Saccharification and Co-Fermentation. *Bioresource Technology*, 104, 349–357. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.10.075>
- Kawai, M., Nagao, N., Tajima, N., Niwa, C., Matsuyama, T., & Toda, T. (2014). The effect of the labile organic fraction in food waste and the substrate/inoculum ratio on anaerobic digestion for a reliable methane yield. *Bioresource Technology*, 157, 174–180. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.018>
- Kim, J., Park, C., Kim, T., Lee, M., Kim, S., Eung-wook Kim, S., & Lee, J. (2003). Effects of Various Pretreatments for Enhanced Anaerobic Digestion with Waste Activated Sludge. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 95(3), 271–275. [http://doi.org/10.1016/S1389-1723\(03\)80028-2](http://doi.org/10.1016/S1389-1723(03)80028-2)
- Li, Y., Zhang, R., He, Y., Zhang, C., Liu, X., Chen, C., & Liu, G. (2014). Anaerobic co-digestion of chicken manure and corn stover in batch and continuously stirred tank reactor (CSTR). *Bioresource Technology*, 156, 342–347. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.054>
- Mac, S., & Llabr, P. (2000). Anaerobic digestion of organic solid wastes . An overview of research achievements and perspectives, 74.
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., & Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 45, 540–555. <http://doi.org/10.1016/j.rser.2015.02.032>
- Menon, V., & Rao, M. (2012). Trends in bioconversion of lignocellulose : Biofuels , platform chemicals & biore fi nery concept. *Progress in Energy and Combustion Science*, 38(4), 522–550. <http://doi.org/10.1016/j.pecs.2012.02.002>
- Mirzoyan, N., Tal, Y., & Gross, A. (2010). Anaerobic digestion of sludge from intensive recirculating aquaculture systems: Review. *Aquaculture*, 306(1–4), 1–6. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.05.028>
- Molino, A., Nanna, F., Ding, Y., Bikson, B., & Braccio, G. (2013). Biomethane production by anaerobic digestion of organic waste. *Fuel*, 103, 1003–1009. <http://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.07.070>
- Nuss, E. T., & Tanumihardjo, S. A. (2010). Maize : A Paramount Staple Crop in the Context of Global Nutrition, 9, 417–436. <http://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00117.x>
- Owamah, H. I., & Izinyon, O. C. (2015). The effect of organic loading rates (OLRs) on the performances of food wastes and maize husks anaerobic co-digestion in continuous mode. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 11, 71–76. <http://doi.org/10.1016/j.seta.2015.06.002>
- PNAEE 2020 - Plano Nacional de Ação para as Energias Renováveis. Diário da República, 1ª série - Nº 70.
- Poschl, M., Ward, S., & Owende, P. (2010). Evaluation of energy efficiency of various biogas production and utilization pathways. *Applied Energy*, 87(11), 3305–3321. <http://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.05.011>
- Ryckebosch, E., Drouillon, M., & Vervaeren, H. (2011). Techniques for transformation of biogas to biomethane. *Biomass and Bioenergy*, 35(5), 1633–1645. <http://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.02.033>
- Seadi, T. Al, Rutz, D., Prassl, H., Kottner, M., Finsterwalder, T., Volk, S., & Janssen, R. (2008). *Biogas*

Handbook (2008th ed.).

- Selig, M. J., Vinzant, T. B., Himmel, M. E., & Decker, S. R. (2009). The effect of lignin removal by alkaline peroxide pretreatment on the susceptibility of corn stover to purified cellulolytic and xylanolytic enzymes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 155(1–3), 397–406. <http://doi.org/10.1007/s12010-008-8511-x>
- Shen, F., Yuan, H., Pang, Y., Chen, S., Zhu, B., Zou, D., ... Li, X. (2013). Bioresource Technology Performances of anaerobic co-digestion of fruit & vegetable waste (FVW) and food waste (FW): Single-phase vs . two-phase. *Bioresource Technology*, 144, 80–85. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.099>
- Song, Z., Yang, G., Liu, X., Yan, Z., Yuan, Y., & Liao, Y. (2014). Comparison of seven chemical pretreatments of corn straw for improving methane yield by anaerobic digestion. *PLoS ONE*, 9(4), 1–8. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0093801>
- Su, Y., Du, R., Guo, H., Cao, M., Wu, Q., Su, R., ... He, Z. (2015). Fractional pretreatment of lignocellulose by alkaline hydrogen peroxide: Characterization of its major components. *Food and Bioproducts Processing*, 94(April), 322–330. <http://doi.org/10.1016/j.fbp.2014.04.001>
- Torre, P., Aliakbarian, B., Rivas, B., Domínguez, J. M., & Converti, A. (2008). Release of ferulic acid from corn cobs by alkaline hydrolysis. *Biochemical Engineering Journal*, 40(3), 500–506. <http://doi.org/10.1016/j.bej.2008.02.005>
- Wang, L., Wu, D., Tang, P., Fan, X., & Yuan, Q. (2012). Xylitol production from corncob hydrolysate using polyurethane foam with immobilized *Candida tropicalis*. *Carbohydrate Polymers*, 90(2), 1106–1113. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.050>
- Wang, X., Yang, G., Feng, Y., Ren, G., & Han, X. (2012). Optimizing feeding composition and carbon-nitrogen ratios for improved methane yield during anaerobic co-digestion of dairy, chicken manure and wheat straw. *Bioresource Technology*, 120(September 2016), 78–83. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.058>
- Wei, Y., Li, X., Yu, L., Zou, D., & Yuan, H. (2015). Mesophilic anaerobic co-digestion of cattle manure and corn stover with biological and chemical pretreatment. *Bioresource Technology*, 198, 431–436. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.035>
- Yao, X., & Xu, K. (2016). Comparative study of characterization and utilization of corncob ashes from gasification process and combustion process. *Construction and Building Materials*, 119, 215–222. <http://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2016.04.077>
- Yenigün, O., & Demirel, B. (2013). Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. *Process Biochemistry*, 48(5–6), 901–911. <http://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.04.012>
- Yong, Z., Dong, Y., Zhang, X., & Tan, T. (2015). Anaerobic co-digestion of food waste and straw for biogas production. *Renewable Energy*, 78, 527–530. <http://doi.org/10.1016/j.renene.2015.01.033>
- Zhang, C., Xiao, G., Peng, L., Su, H., & Tan, T. (2013). Bioresource Technology The anaerobic co-digestion of food waste and cattle manure. *Bioresource Technology*, 129, 170–176. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.138>
- Zhang, L., Lee, Y. W., & Jahng, D. (2011). Anaerobic co-digestion of food waste and piggery wastewater: Focusing on the role of trace elements. *Bioresource Technology*, 102(8), 5048–5059. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.082>
- Zheng, J., Choo, K., Bradt, C., Lehoux, R., & Rehmann, L. (2014). Enzymatic hydrolysis of steam exploded corncob residues after pretreatment in a twin-screw extruder. *Biotechnology Reports*, 3, 99–107. <http://doi.org/10.1016/j.btre.2014.06.008>
- Zheng, Y., Zhao, J., Xu, F., & Li, Y. (2014). Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*, 42(1), 35–53. <http://doi.org/10.1016/j.pecs.2014.01.001>